

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

**VALOR PREDICTIVO DE LA SOBRE EXPRESIÓN
INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEÍNA P16
COMO MARCADOR DE PROGRESIÓN
EN NEOPLASIAS UTERINAS CERVICALES
ESCAMOSAS INTRAEPITELIALES DE BAJO GRADO**

TESIS DOCTORAL

Luis Carlos García Lancha

Sevilla 2017

**VALOR PREDICTIVO DE LA SOBRE EXPRESIÓN
INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEINA P16
COMO MARCADOR DE PROGRESIÓN
EN NEOPLASIAS UTERINAS CERVICALES
ESCAMOSAS INTRAEPITELIALES DE BAJO GRADO**

Trabajo realizado por el licenciado Luis Carlos García Lancha y dirigido por los Codirectores Dr. D. Guillermo Antiñolo Gil, Dr. D. Rafael Torrejón Cardoso, Dr. D. Antonio de Toro Salas y el Dr. D. Jerónimo Pachón Díaz, para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

A mis padres.

A María José, mi esposa.

A mis hijos Álvaro y Raquel.

AGRADECIMIENTOS

Eternamente agradecido al **Hospital San Juan de Dios del Aljarafe** por haber facilitado los medios y las instalaciones necesarias para que se pudiera realizar este estudio.

Al **Servicio de Ginecología del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe**, por su apoyo, paciencia y aliento constante durante los cuatro años de trabajo de campo con las pacientes del estudio. Agradecer a la Auxiliar de enfermería Dña. Virginia Martín Murillo su colaboración constante y especialmente a la Enfermera Dña. Carmen Macarena Naranjo Moreno, por su incondicional y generosa colaboración en la realización de las numerosas colposcopias.

Al **Servicio de Anatomía Patológica del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe**, con especial mención de la participación de los Doctores D. Carlos Escudero Severín y D. Juan Manuel Segura Sánchez. También agradecer la colaboración de las Doctoras Dña. Carmen Eloy García Carrasco y a las tres doctoras patólogas que trabajaron en el Servicio de Anatomía Patológica de forma eventual durante su sustitución. Mi agradecimiento especial a los Técnicos de Laboratorio, que sin su trabajo y dedicación no hubiera sido posible realizar este estudio.

Al **Servicio de Microbiología del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe**, destacando a la Dra. Dña. Mónica Chávez Caballero, por su generosa colaboración y sincero apoyo. Además agradecer la colaboración de los Técnicos de laboratorio D. Antonio Gayoso Rodríguez y Dña. Dolores de Luchi Olmo.

Al **Servicio de Admisión del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe**, especialmente a la Sta. Raquel García Bermúdez, ya que gracias a su constante trabajo fue posible gestionar las citas de seguimiento de las pacientes.

Agradecer la amable colaboración de la Dra. Dña. **Ana Fernández Palacín**, profesora titular de la Universidad de Sevilla en el Área de Conocimiento: Medicina Preventiva y Salud pública, por aportar sus conocimientos estadísticos en el análisis de los resultados.

También agradecer la desinteresada e importante colaboración de D. **Juan Manuel Praena Fernández**, miembro de la Unidad de Estadística, Metodología y Evaluación de la

Investigación – Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud de Sevilla, por su amplio trabajo en el análisis estadístico de los datos.

A mi familia, María José mi esposa y mis hijos Álvaro y Raquel, por su continuo apoyo y aliento constante. Sin ellos no hubiera sido posible realizar este estudio. Rogarle que me disculpen si les robé muchas horas de vida familiar.

Con especial cariño agradecer y recordar a mi maestro de E.G.B. (Educación General Básica) D. Ricardo Gómez Ruiz, que supo inocularme el interés por la ciencia, pues el trabajo que realizamos en 5º curso, titulado “El Método Científico: diferencias entre la disolución de la sal y el azúcar” supuso el germen de esta Tesis Doctoral.

Por último, agradecer el amable, desinteresado y generoso apoyo científico de los Codirectores de esta Tesis Doctoral.

ÍNDICES

ÍNDICES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

A

A: Abortos.

ACOG: Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos.

AEPCC: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.

AIN: Ano Intraepitelial Neoplasia.

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

AGC: Atipias de células glandulares de origen incierto.

AO: Antecedentes Obstétricos.

ASCCP: *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.*

ASC-H: Atipias de células escamosas sin poder descartar lesión de alto grado.

ASCUS: Atipias de células escamosas de significado indeterminado.

C

C: Cesárea.

Ca: Carcinoma.

CAP: Colegio Americano de Patólogos.

CCU: Cáncer de Cuello de Útero.

CDK: *Cyclin dependent protein kinases.*

CE: *Celular Enhancer.*

CIN: Neoplasia Cervical Intraepitelial.

CTL-8: Linfocitos T CD8 citotóxicos.

D

Da: Dalton. Unidad standard utilizada en masa atómica o escala molecular.

E

EFC: *European Federation for Colposcopy.*

F

FDA: *Food and Drug Administration.*

ÍNDICES

G

G: Gestaciones.

G.L: Grados de Libertad.

H

HC-II: Hybrid Capture II.

HLA: Antígeno Leucocitario Humano.

HR: Hazard Ratio.

H-SIL: Lesión Escamosa Intraepitelial de Alto grado.

I

IARC: Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer.

IC: Intervalo de Confianza.

ICC: Intraepitelial Cervical Cáncer.

IFCPC: *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy.*

IHC: Inmuno Histoquímica.

IL: Interleuquinas.

IP: Investigador Principal.

L

LAST: *Lower Anogenital Squamous Terminology.*

LCM-PCR: *Laser Capture Microscopy* – Reacción en Cadena de la Polimerasa.

LCR: *Locus Control Region.*

LEEP: *Loop Electrical Excision Procedure.*

LLETZ: *Large Loop Excision of Transformation Zone.*

L-SIL: Lesión Escamosa Intraepitelial de Bajo grado.

M

MB: Membrana Basal.

McM: Proteína del Mantenimiento de Microsomas.

ml: mililitro.

N

Ng: nanogramo.

NK: *Natural Killer.*

ÍNDICES

Nm: nanómetro.

O

OR: Odds Ratio.

P

P: Proteína.

p: Probabilidad.

Pa: Parto vaginal.

P16 (+): Sobre expresión de la proteína P16.

P16 (-): No sobre expresión de la proteína P16.

PAIN: Perianal Intraepitelial Neoplasia.

PCNA: *Proliferating Cell Nuclear Antigen*.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

PeIN: Pene Intraepitelial Neoplasia.

Pg: picogramo.

PRb: Proteína del Retinoblastoma.

S

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

T

TC: Tejido Conjuntivo.

TOP: Topoisomerasa.

V

VaIN: Vagina Intraepitelial Neoplasia.

VIN: Vulva Intraepitelial Neoplasia.

VPH: Virus del Papiloma Humano.

VPH-AR: Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo.

VPH-BR: Virus del Papiloma Humano de Bajo Riesgo.

VPP: Valor Predictivo Positivo.

ÍNDICES

INDICE DE TABLAS.

TABLAS	Pág.
Tabla 1. Encuesta española sobre resultados citológicos anormales año 2005.	2
Tabla 2. Definición de las siglas de las patologías preinvasoras cervicales.	2
Tabla 3. Encuesta española sobre resultados citológicos anormales año 2007.	2
Tabla 4. Citologías HSJD en los años 2004-05-06-07.	5
Tabla 5. Sobre expresión de la Proteína P16 en los 3 subgrupos de edad, a lo largo de 0, 12 y 24 meses de seguimiento.	65
Tabla 6. TABLA GENERAL: Características generales de la muestra estudiada.	73
Tabla 7. TABLA PROGRESIÓN: Características generales del subgrupo de pacientes que progresaron.	80
Tabla 8. Momentos del seguimiento en el que ocurrió la progresión y su correlación con la sobre expresión de la proteína P16 al inicio.	80
Tabla 9. Biopsias cervicales, de los casos que progresaron, previas a la realización de la conización.	81
Tabla 10. Resultados anatomopatológicos de las piezas de conización realizadas a las pacientes que progresaron.	82
Tabla 11. Correlación histológica entre el resultado de la biopsia cervical, previa a la realización de la conización, y la pieza de conización.	83
Tabla 12. TABLA PERSISTENCIA. Características generales de las pacientes que persistieron.	120
Tabla 13. Motivos de persistencia en los Subgrupos L-SIL y Persistencia OTROS.	120
Tabla 14. Conducta realizada al final del seguimiento de las pacientes que persistieron.	121
Tabla 15. Resultados histológicos de las escisiones LEEP y Conizaciones realizadas en pacientes que progresaron durante los 24 meses de seguimiento.	121
Tabla 16. Resultados del seguimiento, a 3 y 4 años, de las pacientes que persistieron.	123
Tabla 17. TABLA CURACIÓN. Características generales de las pacientes que curaron.	128
Tabla 18. Comparativa de los tres subgrupos, Progresión, Persistencia y Curación, respecto a la Citología al inicio, presencia de Infección viral VPH – AR en el momento 0 mes y estado de la Colposcopia realizada al inicio del estudio.	129

ÍNDICES

Tabla 19. Motivos de los abandonos ocurridos.	130
Tabla 20. Frecuencia de los virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo en los grupos P16 (+) y (-) y en los subgrupos de progresión, persistencia y curación.....	140
Tabla 21. Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.....	141
Tabla 22. TABLA PROGRESIÓN. Frecuencia de los genotipos de alto y bajo riesgo, en el Subgrupo de Progresión, en los momentos 0, 12 y 24 meses de seguimiento, y su relación con la expresión de la proteína P16.....	142
Tabla 23. TABLA PERSISTENCIA: (60 casos persistieron: 20 Persistencia L-SIL; 40 Persistencia otros).....	144
Tabla 24. TABLA CURACIÓN: (19 casos curaron). Frecuencia de los genotipos de alto y bajo riesgo, en el Subgrupo de Curación, en los momentos 0, 12 y 24 meses de seguimiento, y su relación con la expresión de la proteína P16.....	146
Tabla 25. Grupo de pacientes < 25 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.	153
Tabla 26. Grupo de pacientes de 25 – 30 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.	154
Tabla 27. Grupo de pacientes > 30 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.	155
Tabla 28. Genotipos virales de Alto y Bajo riesgo presentes en infecciones simples, en los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, a los 0, 12 y 24 meses. Entre paréntesis de especifica con un signo (+) o (-) si la infección viral simple sobre expresaba o no la proteína P16.	162
Tabla 29. Número de Biopsias/ pacientes, realizadas en los momentos 0, 12 y 24 meses de estudio.....	164
Tabla 30. Biopsias cervicales practicadas en zonas horarias/ paciente, en los momentos 0, 12 y 24 meses.	165
Tabla 31. Números de cuadrantes afectados en los momentos 0, 12 y 24 meses.	168
Tabla 32. Prevalencia de lesiones centrales, periféricas y mixtas, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses del estudio.	171
Tabla 33. Tabla Global de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos, Exactitud.....	184

ÍNDICES

Tabla 34. Tabla 0 MES de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos.....	185
Tabla 35. Tabla de contingencia comparativa entre la prueba P16 realizada al inicio frente a la prueba P16 a los 12 meses.....	187
Tabla 36. Pruebas de Chi Cuadrado / McNemar para el cálculo de la significación estadística entre la prueba P16 al inicio frente a los 12 meses.....	187
Tabla 37. Tabla de contingencia comparativa entre la prueba P16 realizada a los 12 meses frente a la prueba P16 a los 24 meses.....	188
Tabla 38. Pruebas de Chi Cuadrado / McNemar para el cálculo de la significación estadística entre la prueba P16 realizada a los 12 meses frente a los 24 meses.	188
Tabla 39. División de la muestra inicial en sub grupos de EDAD.....	194
Tabla 40. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos de edad < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	194
Tabla 41. Medias y medianas del tiempo de supervivencia entre los sub grupos de edad <= de 30 años y > de 30 años.	196
Tabla 42. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos de edad < = 30 años y > 30 años.	196
Tabla 43. División de la muestra inicial en sub grupos PARIDAD: nulíparas frente a >= 1 parto.....	198
Tabla 44. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos paridad.	198
Tabla 45. División de la muestra inicial en sub grupos MÉTODOS ANTICONCEPTIVOS.	200
Tabla 46. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos paridad.	200
Tabla 47. División de la muestra inicial en sub grupos N° CUADRANTES AFECTOS.....	202
Tabla 48. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos n° cuadrantes afectos.....	202
Tabla 49. División de la muestra inicial en sub grupos DIAGNÓSTICO COLPOSCÓPICO en el momento 0 mes.....	204
Tabla 50. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.....	204
Tabla 51. División de la muestra inicial en sub grupos CITOLOGÍA PREVIA al estudio. ...	205

ÍNDICES

Tabla 52. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos citología previa al inicio del estudio.....	205
Tabla 53. División de la muestra inicial en sub grupos GENOTIPO VPH en el momento 0 mes.....	207
Tabla 54. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos genotipo VPH en el momento 0 mes.	207
Tabla 55. División de la muestra inicial en sub grupos PROTEINA P16 al inicio del estudio.	209
Tabla 56. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos proteína P16 al inicio del estudio.....	209
Tabla 57. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Edad.	213
Tabla 58. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Edad: pacientes > 30 años.....	213
Tabla 59. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Método Anticonceptivo.	214
Tabla 60. Tabla de codificación de variables VPH 0 mes.....	215
Tabla 61. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.	215
Tabla 62. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.	215
Tabla 63. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH positivo, al inicio.....	216
Tabla 64. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Hallazgos colposcópicos, al inicio.....	216
Tabla 65. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Cuadrantes afectados al inicio.	217
Tabla 66. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Citología, al inicio.....	218
Tabla 67. Tabla de Modelo Univariante de Cox – P16, al inicio.	218
Tabla 68. Tabla de Modelo Multivariante de Cox – Citología alto grado, al inicio – P16, al inicio – VPH –AR, al inicio –Edad > 30 años.....	220
Tabla 69. Tabla de Codificación de Variables categóricas.	221
Tabla 70. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años.	222
Tabla 71. Porcentaje de positividad de P16 INK4a para H-SIL, según distintos autores.	228
Tabla 72. Porcentaje de positividad de P16 INK4a en Biopsias negativas, según distintos autores.....	229

ÍNDICES

Tabla 73. Número y porcentajes de L-SIL, H-SIL y biopsias normales, a los 0, 12 y 24 meses, en relación con la sobre expresión de P16. (No se recogen en esta tabla los 4 casos que progresaron a los 6 meses).....	238
Tabla 74. Positividad de la Proteína P16 en el momento inicial y su relación con la Muestra total y los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.	238
Tabla 75. Sobre expresión de la proteína P16, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses, con respecto de los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.	239
Tabla 76. Sobre expresión de la Proteína P16 en los 3 subgrupos de edad, a lo largo de 0, 12 y 24 meses de seguimiento.	240
Tabla 77. Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para H-SIL, recogida por diferentes autores.....	246
Tabla 78. Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para CIN II / III, recogida por diferentes autores.	246
Tabla 79. Prevalencia de lesiones centrales, periféricas y mixtas, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses del estudio.	249
Tabla 80. Porcentajes de cuadrantes afectados en los momentos 0, 12 y 24 meses del estudio, con respecto a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.	250
Tabla 81. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos nº cuadrantes afectados.....	250
Tabla 82. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Cuadrantes afectados al inicio.	251
Tabla 83. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años.	251
Tabla 84. Sensibilidad y Especificidad de la Colposcopia, según diferentes autores.	254
Tabla 85. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.....	255
Tabla 86. Relación entre los VPH – AR vs BR/No infección y la Sobre expresión P16, a los 0, 12 y 24 meses.	267
Tabla 87. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.	279
Tabla 88. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.	279
Tabla 89. Tabla de Modelo Univariante de Cox – P16, al inicio.	280
Tabla 90. Tabla de Modelo Multivariante de Cox – Citología alto grado, al inicio – P16, al inicio – VPH –AR, al inicio –Edad > 30 años.....	280

ÍNDICES

Tabla 91. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años.	281
Tabla 92. Límite de los resultados de detección para la prueba de genotipado del HPV.....	299
Tabla 93. Genotipos incluidos en la prueba de genotipado del HPV Linear Array.	300
Tabla 94. Reproducibilidad para la prueba de genotipado del HPV Linear Array.	300
Tabla 95. Resumen de los casos disponibles en el análisis estadístico.	344
Tabla 96. Edad Media, Desviación típica y Percentiles 25, 50 y 75 de la población.....	344
Tabla 97. Grupos de Edad del estudio: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.....	344
Tabla 98. Grupo de pacientes según Paridad: Nulíparas, 1 parto y > 1 parto.	345
Tabla 99. Grupo de pacientes según Métodos anticonceptivos: Barrera, DIU, Hormonal, Otros.	345
Tabla 100. Grupo de pacientes según Citología previa antes del estudio: Citología Alto grado y Citología Bajo grado.....	345
Tabla 101. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 0 mes: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.	346
Tabla 102. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 0 mes.....	346
Tabla 103. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 0 mes.	347
Tabla 104. Resultados de biopsias cervicales en el momento 0 mes.	347
Tabla 105. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 0 mes.....	347
Tabla 106. Resultados Citológicos a los 6 meses.....	348
Tabla 107. Resultados Citológicos a los 12 meses.....	348
Tabla 108. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 12 meses: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.	349
Tabla 109. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 12 meses.	349
Tabla 110. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 12 meses.	350
Tabla 111. Resultados de biopsias cervicales en el momento 12 meses.	350

ÍNDICES

Tabla 112. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 12 meses.	351
Tabla 113. Resultados Citológicos a los 12 meses.	351
Tabla 114. Resultados Citológicos a los 24 meses.	352
Tabla 115. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 12 meses: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.	352
Tabla 116. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 24 meses.	353
Tabla 117. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 24 meses.	353
Tabla 118. Resultados de biopsias cervicales en el momento 24 meses.	354
Tabla 119. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 24 meses.	354
Tabla 120. Tabla 0 MES de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos.	355
Tabla 121. Tabla de frecuencias P16, en el momento 12 meses.	356
Tabla 122. Tabla de Índices Diagnósticos de la Prueba P16 a los 12 meses.	357
Tabla 123. Tabla de Chi Cuadrado de la Prueba P16 a los 12 meses.	357
Tabla 124. Tabla de frecuencias P16, en el momento 24 meses.	358
Tabla 125. Tabla de Índices Diagnósticos de la Prueba P16 a los 24 meses.	358
Tabla 126. Tabla de Chi Cuadrado de la Prueba P16 a los 24 meses.	359
Tabla 127. Estadísticos respecto a la variable Citología.	360
Tabla 128. Grupo de pacientes según Citología previa antes del estudio: Citología Alto grado y Citología Bajo grado.	360
Tabla 129. Resultados Citológicos a los 6 meses.	360
Tabla 130. Resultados Citológicos a los 12 meses.	361
Tabla 131. Resultados Citológicos a los 24 meses.	361
Tabla 132. Resultados de biopsias cervicales en el momento 12 meses.	362
Tabla 133. Resultados de biopsias cervicales en el momento 24 meses.	362
Tabla 134. Método de Kaplan – Meier: Resumen del procesamiento de casos.	363

ÍNDICES

Tabla 135. Tabla de Supervivencia, en meses.	365
Tabla 136. Tabla de Supervivencia en días.	368
Tabla 137. Medias y medianas para el Tiempo de supervivencia meses.	368
Tabla 138. Medias y medianas para el Tiempo de supervivencia en días.	369
Tabla 139. Percentiles 50 y 75, para el Tiempo de supervivencia en días.	369
Tabla 140. Resumen del procesamiento de los casos respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	370
Tabla 141. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	373
Tabla 142. Medias y Medianas (días), respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	373
Tabla 143. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	373
Tabla 144. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Paridad: 0 partos, >= 1 parto.	374
Tabla 145. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los grupos de Paridad.	377
Tabla 146. Medias y Medianas (días), respecto a los grupos de Paridad.	377
Tabla 147. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los grupos de Paridad.	377
Tabla 148. Resumen del procesamiento de los casos respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.	378
Tabla 149. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.	381
Tabla 150. Medias y Medianas (días), respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.	381
Tabla 151. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los grupos de Paridad.	381
Tabla 152. Resumen del procesamiento de los casos respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.	382
Tabla 153. Tabla de Supervivencia en días, respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.	385
Tabla 154. Medias y Medianas (días), respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.	385

ÍNDICES

Tabla 155. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.....	385
Tabla 156. Resumen del procesamiento de los casos respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.....	386
Tabla 157. Tabla de Supervivencia en días, respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.....	389
Tabla 158. Medias y Medianas (días), respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.....	389
Tabla 159. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.....	389
Tabla 160. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Citología Previa al estudio.	390
Tabla 161. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la Citología Previa al estudio.....	393
Tabla 162. Medias y Medianas (días), respecto a la Citología Previa al estudio.	393
Tabla 163. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la Citología Previa al estudio.....	393
Tabla 164. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.....	394
Tabla 165. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.	397
Tabla 166. Medias y Medianas (días), respecto a la infección VPH en el momento 0 mes...	397
Tabla 167. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.	397
Tabla 168. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.	398
Tabla 169. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.....	401
Tabla 170. Medias y Medianas (días), respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.....	401
Tabla 171. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.....	401
Tabla 172. Codificaciones de la variable categórica Edad (1).	402
Tabla 173. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – edad.	402
Tabla 174. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – edad.	402

ÍNDICES

Tabla 175. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – edad.	403
Tabla 176. Variables en la ecuación (1) – edad.....	403
Tabla 177. Variables en la ecuación (2) – edad.....	403
Tabla 178. Medias de covariables (1) – edad.	403
Tabla 179. Codificaciones de la variable categórica Edad (2).	404
Tabla 180. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (4) – edad.	404
Tabla 181. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (5) – edad.	404
Tabla 182. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (6) – edad.	405
Tabla 183. Variables en la ecuación (3) – edad.....	405
Tabla 184. Variables en la ecuación (4) – edad.....	405
Tabla 185. Medias de covariables (2) – edad.	405
Tabla 186. Codificaciones de variables categóricas – Métodos anticonceptivos.....	406
Tabla 187. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Métodos anticonceptivos.....	406
Tabla 188. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Métodos anticonceptivos.....	406
Tabla 189. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Métodos anticonceptivos.....	406
Tabla 190. Variables en la ecuación (1) – Métodos anticonceptivos.	407
Tabla 191. Variables en la ecuación (2) – Métodos anticonceptivos.	407
Tabla 192. Medias de covariables – Métodos anticonceptivos.	407
Tabla 193. Codificaciones de variables categóricas (1) – VPH 0 mes.....	408
Tabla 194. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – VPH 0 mes.	408
Tabla 195. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – VPH 0 mes.	408
Tabla 196. Variables en la ecuación (1) – VPH 0 mes.....	409
Tabla 197. Medias de covariables (1) – VPH 0 mes.	409
Tabla 198. Codificaciones de variables categóricas (2) – VPH 0 mes.....	409
Tabla 199. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – VPH 0 mes.	410
Tabla 200. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (4) – VPH 0 mes.	410

ÍNDICES

Tabla 201. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (5) – VPH 0 mes.	410
Tabla 202. Variables en la ecuación (2) – VPH 0 mes.....	410
Tabla 203. Variables en la ecuación (3) – VPH 0 mes.....	411
Tabla 204. Medias de covariables (2) – VPH 0 mes.	411
Tabla 205. Codificaciones de variables categóricas – Hallazgos colposcópicos al inicio.	412
Tabla 206. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Hallazgos colposcópicos al inicio.	412
Tabla 207. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Hallazgos colposcópicos al inicio.	412
Tabla 208. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Hallazgos colposcópicos al inicio.	412
Tabla 209. Variables en la ecuación (1) –Hallazgos colposcópicos al inicio.....	413
Tabla 210. Variables en la ecuación (2) –Hallazgos colposcópicos al inicio.....	413
Tabla 211. Medias de covariables –Hallazgos colposcópicos al inicio.....	413
Tabla 212. Codificaciones de variables categóricas-Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.....	414
Tabla 213. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.....	414
Tabla 214. Variables en la ecuación – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.	414
Tabla 215. Medias de covariables – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes..	414
Tabla 216. Codificaciones de variables categóricas-Citología al inicio del estudio.	415
Tabla 217. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Citología al inicio del estudio.	415
Tabla 218. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Citología al inicio del estudio.	415
Tabla 219. Variables en la ecuación – Citología al inicio del estudio.....	415
Tabla 220. Medias de covariables – Citología al inicio del estudio.	416
Tabla 221. Codificaciones de variables categóricas-Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.....	417
Tabla 222. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.	417

ÍNDICES

Tabla 223. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.	417
Tabla 224. Variables en la ecuación – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.	417
Tabla 225. Medias de covariables – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.	418
Tabla 226. Codificaciones de variables categóricas-Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.	419
Tabla 227. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.	419
Tabla 228. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.	419
Tabla 229. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.	420
Tabla 230. Variables en la ecuación (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.....	420
Tabla 231. Variables en la ecuación (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.....	420
Tabla 232. Medias de covariables – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.....	420
Tabla 233. Codificaciones de variables categóricas-Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio. .	421
Tabla 234. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.	421
Tabla 235. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.	421
Tabla 236. Variables en la ecuación – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.	422
Tabla 237. Medias de covariables – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.	422

ÍNDICES

ÍNDICE DE FIGURAS.

FIGURAS	Pág.
Figura 1. Microscopía electrónica del virus del Papilomavirus Humano.....	9
Figura 2. Mapa genético del Papilomavirus genotipo 16.	12
Figura 3. Esquema de las diferentes capas del epitelio escamoso cervical.	16
Figura 4. Corte Histológico, sagital, del cuello de útero.	17
Figura 5. Representación esquemática de los distintos estados de la infección por el virus VPH en el epitelio cervical.	18
Figura 6. Integración viral en la célula huésped.	19
Figura 7. Interacción entre el gen E2 y la región LCR del ADN viral.	21
Figura 8. Integración del ADN del virus VPH en el genoma de la célula huésped.	21
Figura 9. Degradación de p53 y Rb por las oncoproteínas E6 y E7.	22
Figura 10. Ciclo celular de las células eucariotas.	25
Figura 11. Control de progresión de la fase G1 y de la transición de la fase G1 a S por las Kinasas Cdk 4/6 y Cdk 2.	27
Figura 12. Representación del Gen supresor tumoral CDKN2A, localizado en el cromosoma 9 (9p21).	29
Figura 13. Estructura tridimensional de la Proteína P16.	31
Figura 14. Interacción de la Proteína P16 con las CDK 4/6 y su repercusión con el Complejo Proteína del Retinoblastoma/Factor de Transcripción E2F.	32
Figura 15. Inactivación de pRb por la oncoproteína E7. Liberación de E2F.	33
Figura 16. Inactivación de pRb por la oncoproteína E7. Sobreexpresión de P16.	34
Figura 17. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Papanicolaou, de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST.	38
Figura 18. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST.	39
Figura 19. Seguimiento de la muestra reclutada.	62

ÍNDICES

Figura 20. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Papanicolaou, de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST. (Nota: Ver Figura 17).311

Figura 21. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST. (Nota: Ver Figura 18).312

ÍNDICES

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

GRÁFICOS	Pág.
Gráfico 1. VIRUS ALTO RIESGO. Frecuencias de los genotipos VPH de alto riesgo.....	134
Gráfico 2. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a la expresión de la proteína P16 y al momento del estudio detectado.	134
Gráfico 3. VIRUS BAJO RIESGO. Frecuencias de los genotipos VPH de bajo riesgo.....	138
Gráfico 4. Frecuencia de los genotipos virales VPH de bajo riesgo, en relación a la expresión de la proteína P16 y al momento del estudio detectado.	139
Gráfico 5. Genotipos virales VPH-Alto Riesgo en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.	148
Gráfico 6. Genotipos virales VPH- Bajo Riesgo en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.	149
Gráfico 7. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, y a su expresión de la proteína P16.	150
Gráfico 8. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, y a su expresión de la proteína P16.	151
Gráfico 9. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los 3 subgrupos de edad.	156
Gráfico 10. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los 3 subgrupos de edad.....	157
Gráfico 11. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los 3 subgrupos de edad y estado final de Progresión, Persistencia o Curación.	158
Gráfico 12. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los 3 subgrupos de edad y estado final de Progresión, Persistencia o Curación.	159
Gráfico 13. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 0 mes.....	166
Gráfico 14. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 12 meses.	166
Gráfico 15. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 24 meses.	166
Gráfico 16. Porcentajes de Cuadrantes afectados, practicadas en el momento 0 mes.	169
Gráfico 17. Porcentajes de Cuadrantes afectados, practicadas en el momento 12 meses.....	169
Gráfico 18. Porcentajes de Cuadrantes afectados, practicadas en el momento 24 meses.	169

ÍNDICES

Gráfico 19. Curva de Función de Supervivencia Global_1 (meses).	192
Gráfico 20. Curva de Función de Supervivencia Global_2 (días).....	193
Gráfico 21. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos de edad < 25 años, 25-30 años y > 30 años.	195
Gráfico 22. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos de edad < = 30 años y > 30 años.	197
Gráfico 23. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos nulíparas y > = 1 parto.	199
Gráfico 24. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos métodos anticonceptivos.	201
Gráfico 25. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos nº cuadrantes afectos.	203
Gráfico 26. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.	204
Gráfico 27. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos citología previa al inicio del estudio.....	206
Gráfico 28. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos genotipo VPH en el momento 0 mes.....	208
Gráfico 29. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos proteína P16 al inicio del estudio.....	210
Gráfico 30. Curva de Función de Riesgo Global (meses).	211
Gráfico 31. Curva de Función de Supervivencia Global_1 (meses).	233
Gráfico 32. Curva de Función de Supervivencia Global_2 (días).....	234

ÍNDICES

ÍNDICE DE IMÁGENES.

IMÁGENES	Pág.
Imagen 1. Técnica de Conización con asa de diatermia, modelo Fisher.	71
Imagen 2. Modelos de asas de diatermia utilizadas en la conización. En la imagen de la derecha se expone el asa de Fisher. En el extremo de la izda vemos la bola de coagulación monopolar.	72
Imagen 3. Colposcopia del caso nº 3 realizada a los 6 meses.	87
Imagen 4. Imágenes colposcópicas del caso nº 21 realizadas a los 24 meses.	110
Imagen 5. Imágenes colposcópicas de la realización de un LEEP.	122
Imagen 6. Imágenes colposcópicas centrales y periféricas.	171
Imagen 7. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 1	175
Imagen 8. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 2.	176
Imagen 9. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 4.	178
Imagen 10. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 5.	180
Imagen 11. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 6.	181
Imagen 12. ThinPrep citología de base líquida.	292
Imagen 13. Preparación de la muestra para la extracción de ADN.	302
Imagen 14. Termociclador.	303
Imagen 15. Solución desnaturalizante.	304
Imagen 16. Se añaden alícuotas de amplicón desnaturalizado.	305
Imagen 17. Reacción de detección: detección colorimétrica.	306
Imagen 18. Lectura colorimétricas de las tiras de nitrocelulosa de genotipado HPV.	308
Imagen 19. Soluciones de alcohol y xilol.	313
Imagen 20. Procesamiento de la muestra histológica.	314
Imagen 21. Des parafinado del tejido.	314
Imagen 22. Identificación de la muestra.	315

ÍNDICES

Imagen 23. Inmunoteñidor automatizado.....	315
Imagen 24. Software informático del Inmunoteñidor automatizado (Benchmark XT de Ventana).....	315
Imagen 25. Patrón de tinción Inmunohistoquímica P16 positivo difuso.....	317
Imagen 26. Patrón de tinción Inmunohistoquímica P16 positivo focal.....	318
Imagen 27. Muestra a estudiar con control positivo.....	318
Imagen 28. Sala de realización de la colposcopia y colposcopio.....	321
Imagen 29. Colposcopia normal.....	324
Imagen 30. Cambios colposcópicos menores.....	325
Imagen 31. Cambios colposcópicos mayores.....	326
Imagen 32. Pinza Schumacher Biopsy Crocodile Forceps.....	327
Imagen 33. Detalle de la biopsia cervical, con forma triangular, obtenida con esta pinza. ...	328
Imagen 34. Modelo del cuello uterino y detalles de ejemplos de biopsias cervicales.	329
Imagen 35. Detalle del tamaño de biopsia cervical.	330

INDICE DE CONTENIDOS

1. JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA.....	1
2.- INTRODUCCIÓN: PATOGÉNESIS.	9
2.1.- BIOLOGÍA DEL VIRUS VPH (VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO).(32).....	9
2.2.- LA INFECCIÓN VIRAL(43): FASE LATENTE, PRODUCTIVA Y TRANSFORMACIÓN.	13
2.3.-. REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR. MECANISMOS DE ONCOGÉNESIS.....	25
2.4.- MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA PROTEÍNA P16 INK4A.	29
2.5.- DETERMINACIÓN MOLECULAR DE LA PROTEÍNA P16.	35
2.6.- LESIONES PRE INVASORAS DEL CUELLO UTERINO.....	38
3.- OBJETIVOS.....	42
3.1.- HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	42
3.2.- OBJETIVO PRINCIPAL.....	42
3.3.- OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	42
4.- MATERIAL-CASOS Y MÉTODO.	44
4.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN.	44
4.2.- DEFINICIÓN DE CASOS.	44
4.3.- DETECCIÓN DE LOS CASOS.	45
4.4.- SEGUIMIENTO DE LOS CASOS.....	47
4.5.- DEFINICIÓN DE RESULTADOS.	50
4.6.- PROCEDIMIENTOS.....	52
4.6.1.- Citología.....	52
4.6.2.- Colposcopia.....	52
4.6.3.- Procesamiento Histológico y determinación Inmunohistoquímica de la proteína P16.....	53
4.6.4.- Genotipado viral.	55
4.7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	58
5.- RESULTADOS.....	61
5.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.....	61
5.1.1- POBLACIÓN.	61
5.1.1.1.- Grupo de PROGRESIÓN.....	74
Caso N° 1:	84
Caso N° 2:	85
Caso N° 3:	86
Caso N° 4:	88
Caso N° 5:	89
Caso N° 6:	90
Caso N° 7:	91

ÍNDICES

Caso N° 8:	92
Caso N° 9:	93
Caso N° 10:	94
Caso N° 11:	95
Caso N° 12:	96
Caso N° 13:	97
Caso N° 14:	98
Caso N° 15:	100
Caso N° 16:	101
Caso N° 17:	102
Caso N° 18:	103
Caso N° 19:	104
Caso N° 20:	106
Caso N° 21:	108
Caso N° 22:	111
5.1.1.2.- Grupo de PERSISTENCIA.	113
5.1.1.3.- Grupo de CURACIÓN.	124
5.1.2.- Resultados VIRALES.	131
5.1.2.1- Resultados virales: subgrupo Progresión.	142
5.1.2.2- Resultados virales: subgrupo Persistencia.	144
5.1.2.3- Resultados virales: subgrupo Curación.	146
5.1.2.4- Resultados virales: subgrupo Edad.	152
5.1.2.5- Estudio de Infecciones Simples.	160
5.1.3.- Biopsias realizadas.	164
5.1.4.- Cuadrantes afectos.	167
5.1.5.- Lesiones colposcópicas Centrales / Periféricas.	170
5.1.6.- Variaciones topográficas de P16.	174
Caso N° 1:	174
Caso N° 2:	176
Caso N° 3:	177
Caso N° 4:	178
Caso N° 5:	180
Caso N° 6:	181
Caso N° 7:	182
5.2. ESTUDIO ANALÍTICO.	183
5.2.1.- Sensibilidad/Especificidad/VPP/VPN de la Prueba P16.	183
5.2.1.1.- Análisis al inicio del estudio (0 mes).	185
5.2.1.2.- Análisis a los 12 meses.	185

ÍNDICES

5.2.1.3.- Análisis a los 24 meses.....	186
5.2.2.- Incidencias acumuladas: (Citologías H-SIL/Histologías H-SIL).....	189
5.2.2.1.- Incidencias acumuladas para Citología H-SIL.....	189
5.2.2.2 Incidencias acumuladas para Biopsia/Histología H-SIL.....	190
5.2.3.- Método de Kaplan-Meier.....	191
5.2.3.1.- Edad.....	194
5.2.3.2.- Paridad.....	197
5.2.3.3.- Método Anticonceptivo.....	200
5.2.3.4.- Número de cuadrantes afectados en el momento 0 mes del estudio.....	202
5.2.3.5.- Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.....	203
5.2.3.6.- Citología previa al estudio.....	205
5.2.3.7.- VPH en el momento 0 mes.....	207
5.2.3.8.- Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.....	209
5.2.4.- Modelo de regresión de Cox.....	212
5.2.4.1.- Modelos Univariantes de Cox.....	213
5.2.4.1.1.- EDAD.....	213
5.2.4.1.2.- MÉTODO ANTICONCEPTIVO.....	214
5.2.4.1.3.- VPH al inicio.....	214
5.2.4.1.4.- HALLAZGOS COLPOSCOPICOS al inicio.....	216
5.2.4.1.5.- NÚMERO DE CUADRANTES AFECTOS al inicio.....	217
5.2.4.1.6.- CITOLOGÍA al inicio del estudio.....	217
5.2.4.1.7.- SOBRE EXPRESIÓN de la proteína P16, al inicio del estudio.....	218
5.2.4.2.- Modelos Multivariantes de Cox.....	219
5.2.4.2.1.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/EDAD.....	219
5.2.4.2.2.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/GENOTIPO VPH al inicio/EDAD/Nº de CUADRANTES AFECTOS al inicio.....	221
6.- DISCUSIÓN.....	224
6.1.- PREVALENCIA VS INCIDENCIA DE L-SIL Y SU SEGUIMIENTO.....	224
6.1.1.- Baja Prevalencia de lesiones L-SIL en nuestro medio.....	224
6.1.2.- Historia natural de las lesiones L-SIL.....	225
6.1.3.- Reflexiones sobre la historia natural de las lesiones L-SIL.....	225
6.2.-VARIABILIDAD INTER/INTRA OBSERVADOR E INFRADIAGNÓSTICOS H-SIL.....	227
6.2.1.- Introducción.....	227
6.2.2.- Reflexiones sobre la variabilidad inter/intra observador.....	228
6.3.-INCIDENCIAS ACUMULADAS PARA CITOLOGÍA E HISTOLOGÍA DE H-SIL.....	231
6.3.1.- Incidencias acumuladas para Citologías de alto grado.....	231
6.3.2.- Incidencias acumuladas para Histologías de alto grado.....	231

ÍNDICES

6.4.- MÉTODO DE KAPLAN-MEIER (DESCRIPCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA O AUSENCIA DE ENFERMEDAD).	232
6.5.- PREVALENCIA DE LA POSITIVIDAD DE LA PROTEÍNA P16.	237
6.6.- MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS DEL PROMOTOR DEL GEN P16.	242
6.7.- SENSIBILIDAD / ESPECIFICIDAD / VPP / VPN DE LA PRUEBA P16.	243
6.7.1.- P16 en muestras Citológicas.	243
6.7.2.- P16 en muestras Histológicas.	244
6.8.- SENSIBILIDAD / ESPECIFICIDAD/ VPP/VPN DE LA COLPOSCOPIA.	248
6.8.1.- Consideraciones sobre las Imágenes colposcópicas.	248
6.8.2.- Consideraciones sobre la valoración diagnóstica de la colposcopia y de la biopsia dirigida.	252
6.9.- CONSIDERACIONES SOBRE EL TAMAÑO DE LA BIOPSIA DE CÉRVIX.	256
6.10.- DETERMINACIÓN VIRAL EN CITOLOGÍA VS HISTOLOGÍA.	257
6.11.- INFECCIONES VIRALES SIMPLES VS MÚLTIPLES.	259
6.12.-CONSIDERACIONES SOBRE VPH-AR.	263
6.13.-CONSIDERACIONES SOBRE VPH-AR GENOTIPO 16.	269
6.14.- CONSIDERACIONES VPH- BAJO RIESGO.	272
6.15.- VALOR DE LA CITOLOGÍA PREVIA.	274
6.16.- P16 INK4A COMO FACTOR PREDICTOR DE PROGRESIÓN DE LESIONES H-SIL.	277
7.- CONCLUSIONES.	284
7.1.- FORTALEZAS DEL ESTUDIO.	284
7.2.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO.	285
7.3.- CONCLUSIONES DE ESTUDIOS ANTERIORES.	286
7.3.1.- Estudios PROSPECTIVOS.	286
7.3.2.- Estudios RETROSPECTIVOS.	287
7.4.- CONCLUSIONES DE NUESTRO ESTUDIO.	289
8.- ANEXOS.	292
8.1.- METODOLOGÍA EN LA REALIZACIÓN DE LA CITOLOGÍA.	292
8.1.1.- Facultativo:	293
8.1.2.- Auxiliar de enfermería:	294
8.1.3.- Sistema de Bethesda 2001(60).	294
8.2.- METODOLOGÍA EN LA DETERMINACIÓN DE VPH.	297
8.2.1.- Preparación de la muestra. (PREPARACIÓN-EXTRACCIÓN).	301
8.2.2.- Amplificación mediante PCR. (AMPLIFICACIÓN).	303
8.2.3.- Reacción de hibridación.	304
8.2.4.- Reacción de detección. (DETECCIÓN COLORIMÉTRICA).	306
8.3.- METODOLOGÍA EN LA REALIZACIÓN DE P16.	309
8.3.1.- Estudio histológico.	309
8.3.2.- Realización de la técnica Inmunohistoquímica.	312

ÍNDICES

8.3.3.- Evaluación microscópica óptica de la expresión P16.....	317
8.4.- METODOLOGÍA EN LA REALIZACIÓN DE LA COLPOSCOPIA.	320
8.4.1.- Procedimiento en la realización de la Colposcopia.....	322
8.4.2.- Terminología Colposcópica Barcelona 2002(329).....	333
8.5.- CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO.	337
FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO	337
8.6.- RESOLUCIÓN DE LA APROBACIÓN DEL ESTUDIO P16 POR EL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DEL CENTRO H.U. VIRGEN DEL ROCÍO.	343
8.7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	344
8.7.1.- Descriptivos Generales.....	344
8.7.2.- Sensibilidad / Especificidad / Valor predictivo positivo /Valor predictivo negativo, de la PRUEBA P16.	355
8.7.2.1.- P16 AL INICIO (0 MES).....	355
8.7.2.2.- P16 A LOS 12 MESES.....	356
8.7.2.3.- P16 A LOS 24 MESES.....	358
8.7.3.- Porcentajes acumulados en citología e histología de Alto y Bajo grado.....	360
8.7.3.1.- Porcentajes acumulados en Citologías de Alto y Bajo grado.	360
8.7.3.2.- Porcentajes acumulados en Histologías de Alto y Bajo grado.....	362
8.7.4.- Método de Kaplan – Meier.....	363
8.7.5.- Modelos de regresión de Cox.	402
8.7.5.1.- Modelos Univariantes.....	402
8.7.5.1.1.- EDAD.	402
8.7.5.1.2.- MÉTODOS ANTICONCEPTIVOS.....	406
8.7.5.1.3.- VPH al inicio del estudio.....	408
8.7.5.1.4.- HALLAZGOS COLPOSCOPICOS al inicio.....	412
8.7.5.1.5.- NÚMERO DE CUADRANTES AFECTOS en el momento 0 mes.	414
8.7.5.1.6.- CITOLOGÍA al inicio del estudio.	415
8.7.5.1.7.- SOBRE EXPRESIÓN de la Proteína P16, al inicio del estudio.....	417
8.7.5.2.- Modelos Multivariantes.....	419
8.7.5.2.1.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/EDAD.	419
8.7.5.2.2.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/GENOTIPO VPH al inicio/EDAD/Nº de CUADRANTES AFECTOS al inicio.	421
9.- BIBLIOGRAFÍA.....	424

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

1. JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA.

Desde que se introdujeron los programas de cribado poblacional para la detección precoz de las lesiones cervicales ha habido mucha controversia tanto en la nomenclatura, como en el significado evolutivo de estas lesiones. Actualmente sabemos que las lesiones pre invasoras pueden dar lugar a un cáncer de cérvix uterino, pero también sabemos que la mayoría de ellas desaparecen de manera espontánea gracias a la inmunidad del huésped.

A pesar de ello, y debido a la frecuencia de presentación de las lesiones cervicales pre invasoras en la población general y su posibilidad de degeneración maligna, los programas de cribado y seguimiento se mantienen ocupando gran parte del tiempo de las consultas de ginecología, generando incertidumbre en un periodo de tiempo muy prolongado de la vida de la mujer y de sus parejas antes de llegar a un diagnóstico definitivo.

Por ello, sería muy interesante incorporar otros métodos diagnósticos que nos pudieran aportar datos sobre las posibilidades de evolución de estas lesiones pre invasoras, evitando estos efectos secundarios del cribado poblacional del cáncer de cuello uterino.

La determinación inmunohistoquímica de la proteína P16, (que es una expresión indirecta de la infección viral y de la degeneración maligna) y su incorporación en ciertas etapas del cribado poblacional o tras el diagnóstico de alguna lesión pre invasora, podría mejorar estos aspectos comentados. Así, nos podría filtrar aquellas pacientes con mayor potencial de progresión, que requerirían un seguimiento más estrecho, y aquellas que evolucionarían hacia la curación, sin precisar excesivos controles y pruebas, ni someterse a una situación de incertidumbre y estrés innecesaria.

Las lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (*low-grade squamous intraepithelial lesions* (L-SIL)) son muy prevalentes en la práctica clínica, siendo una de las alteraciones más frecuentes dentro de las lesiones pre invasoras del cérvix uterino.

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

Así, hacemos referencia a la “Encuesta española sobre resultados citológicos anormales del año 2005”(1), sobre un total de 409.443 citologías, el L-SIL suponía el 1,19% (Tabla 1).

RESULTADOS	Nº	%	Min. %	Max. %
ASCUS	4.394	1,07	0,03	2,84
ASC - H	274	0,06	0,01	0,16
AGC	48	0,01	0,01	0,16
L - SIL	4.911	1,19	0,26	1,90
H - SIL	1.162	0,28	0,13	0,40

Tabla 1. Encuesta española sobre resultados citológicos anormales año 2005.

ASCUS: Atipias de células escamosas de origen incierto
ASC-H: Atipias de células escamosas sin poder descartar lesión de alto grado
AGC: Atipias de células glandulares de origen incierto
L-SIL: Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado
H-SIL: Lesión escamosa intraepitelial de alto grado

Tabla 2. Definición de las siglas de las patologías preinvasoras cervicales.

Posteriormente, Vilaplana et al. en el año 2007(2) comunica una prevalencia del 1.20%.(Tabla 3).

RESULTADOS	%	Min. %	Max. %
ASCUS	1,60	0,03	2,84
ASC - H	0,13	0,01	0,16
L - SIL	1,20	0,26	1,90
H - SIL	0,28	0,13	0,40

Tabla 3. Encuesta española sobre resultados citológicos anormales año 2007.

Por otro lado, en la revista Progresos de Obstetricia y Ginecología en su número extraordinario de septiembre 2014(3), se analiza la carga de enfermedad cervical asociada al Virus del Papiloma Humano (VPH) en España. En este artículo, las fuentes consultadas son las siguientes:

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

1. Instituto Nacional de Estadística(4): se tuvo en cuenta mujeres mayores de 18 años y por grupos de edad simple, residentes en España a 1 de enero de 2013.
2. Estudio Afrodita(5;6): número de mujeres sexualmente activas, a partir de la aplicación de las tasas específicas por edad simple.
3. Encuesta Nacional de Estadística 2011-2012(7): número de mujeres que se han realizado un cribado cervical, aplicando las tasas específicas por edad simple.
4. Estudio Cleopatre(8): número de mujeres con infección por VPH, aplicando las tasas específicas por grupo de edad de 5 años. Nuestro centro participó en este estudio, aportando nuestra incidencia VPH en la población del Aljarafe de Sevilla. Muestra de trabajo representativa de nuestra población: 46.

- 18 años: 6
- 19 años: 6
- 20-21 años: 7.
- 22-25 años: 7.
- 26-35 años: 4.
- 36-45 años: 4.
- 46-55 años: 6.
- 56-65 años: 6.

La técnica de laboratorio empleada fue Captura de Híbridos-2, para VPH de Alto y Bajo riesgo:

- VPH- Alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68.
- VPH- Bajo riesgo: 6, 11, 42, 43 y 44.

Resultados de nuestra población muestral:

- Grupo de 22-25 años: 3 casos de VPH positivos.
 - Caso 1: VPH-AR: 16 y VPH-BR: 44.
 - Caso 2: VPH positivo para alto y bajo riesgo, sin especificar el genotipo.
 - Caso 3: VPH-AR: 39, 51 y 56.
- Grupo de 26-35 años: 2 casos de VPH positivos.
 - Caso 1: VPH-AR, sin especificar genotipo.
 - Caso 2: VPH-AR: 16.

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

5. Población catalana atendida en el Sistema Nacional de Salud durante el periodo 2008-2011(9;10): número de citologías anormales, según el grado de lesión. Se aplicaron las tasas específicas por grupos de edad quinquenales. También se hace mención a un estudio transversal de seis comunidades autónomas españolas sobre 104.449 mujeres que se realizaron una citología cervical rutinaria(11). Dicho estudio mostró unas proporciones similares de lesiones a las observadas en Cataluña en el Sistema Nacional de Salud, con la excepción de las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (H-SIL).
6. Registros de Girona y Tarragona para el periodo 2003-2006(12): número de mujeres con CIN (Neoplasias Cervicales Intraepiteliales) III/carcinoma in situ: se aplicaron las tasas específicas a cada grupo de edad quinquenal.
7. *International Agency for Research on Cancer* para España en 2012(13): número de casos nuevos y muertes anuales por cáncer cervical invasor.

Una variable importante para la extrapolación de la estimación de la tasa de enfermedad pre invasora, es la definición de los denominadores y de la población de riesgo. Por tanto se estimó tanto el número de mujeres sexualmente activas como las que son cribadas. Así, en España, de las 19.644.291 mujeres residentes mayores de 18 años, 18.836.899 son sexualmente activas, y de éstas, 12.836.899 en encuentran en el grupo de 25-65 años. El segundo punto a tener en cuenta es el cribado poblacional. Por tanto, las coberturas de cribado cervical (periodicidad a 3 años) varían según la edad, siendo del 71% entre los 25-65 años y mucho menor fuera de este rango (47% entre los 18-24 años y del 21% en mayores de 65 años). Combinando ambos indicadores, se estima que en España 10.584.502 de mujeres sexualmente activas acudirían a realizarse una citología cervical en un periodo de 3 años, de las cuales 9.195.113 tendrían entre 25-65 años de edad, lo que supone una media de 3.528.167 mujeres cribadas anualmente. Se estima que de la totalidad de mujeres sexualmente activas en España, 1.433.389 entre 25-65 años presentan una infección detectable por VPH y 336.441 entre 25-65 años, una citología anormal. Si se tienen en cuenta las coberturas estimadas de cribado, sólo se detectaría una citología anormal cada 3 años a 287.067 mujeres, de las cuales 107.238 darían como resultado lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (L-SIL). Así, las **Tasas globales de L-SIL** se estiman entre **1,2-1,3%**.

Según el informe del *Cervical Screening Programme, England*, 2013-14(14), publicado por el *Health and Social Care Information Centre*, el 25 de noviembre de 2014 en Reino

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

Unido, sobre un total de 3.23 millones de mujeres testadas, de edad comprendida entre 25 y 64 años, el **1,8%** de las citologías realizadas resultaron ser **L-SIL**, tanto en los informes de 2011-12, 2012-13 y 2013-14.

El *College of American Pathologists* (Colegio Americano de Patólogos, CAP), después de analizar los datos de 600 laboratorios, emitió los porcentajes de **citologías patológicas** teniendo en cuenta los diferentes métodos de preparación de muestras(15):

- ASCUS: 4,3%.
- ASC-H: 0,3%.
- **L-SIL: 2,5%**.
- H-SIL: 0,5%.
- AGC: 1,5%.

En los EE.UU. cada año, aproximadamente 2 a 3 millones de mujeres tendrán una citología anormal(16).

Por último, a tenor de las 44.736 citologías recogidas en nuestro centro, Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, durante los años 2004 a 2007, el **L-SIL citológico** presenta una prevalencia del **0,37%**. (Datos no publicados)

RESULTADOS	2004		2005		2006		2007		TOTAL	
Total Citologías	= 9.443		= 10.821		= 11.516		= 12.956		= 44.736	
Total casos N / %	115 / 1.21		86 / 08		161 / 1.39		166 / 1.28		528 / 1.18	
Nº / % Total Cito	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ASCUS	53	1,20	43	0,39	68	0,59	76	0,58	240	0,53
ASC - H	1	0,01	2	0,01	13	0,11	8	0,06	24	0,05
AGC	3	0,03	0	0	4	0,03	4	0,03	11	0,02
L - SIL	41	0,43	27	0,24	49	0,42	48	0,37	167	0,37
H - SIL	15	0,15	10	0,09	23	0,19	28	0,21	76	0,16
Ca. Invasor	2	0,02	4	0,03	4	0,03	2	0,01	12	0,02

Tabla 4. Citologías HSJD en los años 2004-05-06-07.

Nº= Números.

%= Porcentajes.

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

El manejo clínico del L-SIL y su seguimiento conlleva realizar múltiples exploraciones, pruebas y consultas durante al menos 2 años, lo cual supone una situación de incertidumbre y estrés para la paciente, un riesgo de sobre tratamiento o de exceso de intervencionismo en patologías que necesitan en muchas ocasiones sólo observación y control. Además, supone una sobrecarga en las agendas de consulta de ginecología de los centros de referencia.

Sabemos que entre el 26 y el 80% de los L-SIL experimenta remisión clínica espontáneamente sin tratamiento. Es decir, son lesiones transitorias que regresan a epitelio normal(17-20). La mayoría de estas remisiones ocurren en un periodo de 12 a 18-24 meses (19;21-25). Sin embargo, entre el 4 y el 43% de las L-SIL progresan hacia lesiones más graves. Otros autores afirman que el 10% y el 15% de estas lesiones CIN I (Cervical Intraepitelial Neoplasia)/L-SIL progresan a CIN II-III/H-SIL(26-31), que se consideran los precursores inmediatos de carcinoma cervical. Por tanto, es posible que estemos sobre tratando a paciente que curarán espontáneamente.

En los últimos años se ha sopesado el papel de la determinación inmunohistoquímica de la proteína P16. Si lo comparamos con otros marcadores como el Ki67, la proteína 2 del mantenimiento de microsomas (MCM2), la Topoisomerasa II α , Cdc6 y Mcm5, **P16 INK4a** es el que mayores ventajas presenta, pues tiene mayor sensibilidad y especificidad, puede ser utilizado como ayuda complementaria en el diagnóstico morfológico mediante tinción con hematoxilina/eosina y puede aportar información pronóstica relevante en el manejo de las pacientes con lesiones L-SIL.

Así, creemos que la determinación de la proteína P16 en estas lesiones (L-SIL) puede ser un marcador de factor pronóstico, que nos seleccione qué paciente progresarán a lesiones de mayor grado y cuales sanarán (**Factor pronóstico**). Con lo cual no realizaremos actuaciones médicas innecesarias en aquellas pacientes con buen pronóstico y nos anticiparemos en el tratamiento de otras que avanzarían a lesiones de mayor grado.

Por otra parte, se está valorando la posibilidad de realizar esta técnica (mediante toma citológica) en la selección de mujeres con citología ASCUS o L-SIL, e incluso en el cribado primario, con el objetivo de aumentar la especificidad en la detección de las Neoplasias Cervicales Intraepiteliales II-III (CIN II-III) o H-SIL.

JUSTIFICACIÓN Y PERTINENCIA

En nuestra casuística, un 11,3% de las lesiones citológicas ASCUS y un 4,87% de las citologías L-SIL “escondían” lesiones de alto grado H-SIL (la bibliografía recoge el 5-15%).

Podemos **concluir** de todo lo expuesto que la **sobre expresión** de la **proteína P16** puede tener un **valor PRONÓSTICO** en las lesiones **L-SIL**.

Sin embargo, se requieren más estudios prospectivos para determinar la capacidad pronóstica real de este marcador.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

2.- INTRODUCCIÓN: PATOGÉNESIS.

2.1.- Biología del Virus VPH (Virus del Papiloma Humano).(32)

Taxonómicamente los virus del papiloma humano (VPH), pertenecen a la familia Papovaviridae (Figura 1). Los Papovaviridae son un grupo de virus de ADN (ácido desoxirribonucleico), de doble cadena circular, encapsidados y de pequeño tamaño (escasamente 8.000 pares de bases) que infectan a varias especies de animales, desde pájaros o peces hasta mamíferos y de los que se han reportado 100 tipos en humanos (en bovinos 6 tipos, en perros 2, en conejos 2, en caballos, chimpancé y mono Rhesus sólo un tipo). Se pueden agrupar en grandes géneros. El género Alfa-papilomavirus es de gran importancia clínica dado que agrupa a los VPH asociados con lesiones mucosas, genitales y no genitales. El resto de géneros, los Beta, Gamma y Mu papilomavirus recogen a los VPH asociados a lesiones cutáneas, benignas o malignas(33;34).

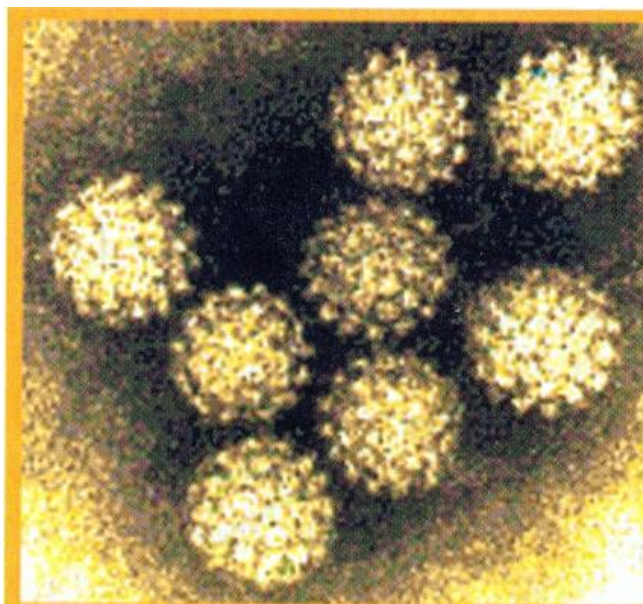


Figura 1. Microscopía electrónica del virus del Papilomavirus Humano.

(Tomado del Curso de formación VPH y Cáncer del tracto genital inferior 2008. Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Constan de varios genes agrupados en dos categorías diferentes, ocho genes de expresión temprana (E1-E8)¹, cuya expresión se traduce en proteínas implicadas en la regulación y replicación viral, y dos genes de expresión tardía L1 y L2²,⁽³⁵⁾ que expresan las proteínas para el ensamblaje de la cubierta viral, la cápside. Una región de control, denominada LCR, del inglés *locus control región*, será la encargada de controlar la expresión de los genes tempranos E6 y E7. Mientras que los genes de expresión temprana difieren notablemente en su secuencia entre los diferentes genotipos de VPH, los genes de expresión tardía presentan similitudes entre ellos^(36;37).

La región temprana (Figura 2), representa el 45% del genoma y contiene 7 regiones de lectura abierta, que codifican proteínas no estructurales, cuya función es controlar la replicación del ADN e inducir la transformación maligna de la célula huésped:

E1 controla la replicación episomal del ADN, a través de la codificación de un modulador (E1-M) y de un factor de replicación (E1-R). Mientras esta zona del genoma se encuentra íntegra y funcional, se produce una replicación normal, evitando la integración del ADN en el genoma de la célula huésped.

E2 juega un papel importante en el ciclo de la vida ya que posee capacidad de reprimir o activar los promotores virales. Codifica un factor represor de transcripción (E2-TR), que inhibe la transcripción del promotor P97, el cual dirige la síntesis de E6 y E7.

Aún no se conoce el producto proteico ni la función de **E3**.

E4 produce proteínas que intervienen en la maduración de las partículas virales. Parece ser que esta proteína inicia los cambios coilocíticos en las células epiteliales. Este gen se pierde cuando se integra el ADN viral en el genoma de la célula huésped.

E5 produce una pequeña proteína de 44 aminoácidos que se une a la membrana citoplasmática. La pérdida o mutación de esta región evita la replicación episomal del ADN y favorece la integración del ADN al cromosoma.

Las regiones **E6** y **E7** producen dos oncoproteínas transformantes:

E6 es una proteína de 150 aminoácidos que liga Zinc, forma un complejo con p53. El gen p53 se localiza en el cromosoma 17. La proteína p53, en condiciones basales, permite detener el ciclo celular en fase G1, efecto mediado por la proteína p21cip1/WAF1, que inhibe a las Kinasas dependiente de ciclinas, o activa el mecanismo de apoptosis mediante la activación

¹ (E = Early)

² (L = Late)

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

del gen bax (procesos desencadenados frente a una carga viral elevada o ante mutaciones del ADN celular).

E7 es una proteína de 100 aminoácidos, ligante de Zinc, que experimenta fosforilación, permitiéndole unirse a través de su extremo N-terminal (aminoácidos 20 a 30), a la proteína del retinoblastoma (pRb), alterando su función. PRb se origina del gen localizado en el cromosoma 13. Interactúa con el factor de transcripción celular E2F en la fase G1 del ciclo celular, inhibiendo la expresión de genes relacionados con la replicación del ADN y la proliferación celular. Así, la unión de E7 con pRb, a través de la fosforilación de esta última, permite la expresión de timidina kinasa, c-myc, polimerasa α , PCNA, Ki-67, proteína de mantención de mini cromosomas (MCM), p16, ciclina A y E. También se le atribuyen otras funciones a la proteína E7, como la unión con Kinasa de Histona H1, lo que favorece la acción transformante celular. Por otra parte, **E7 inhibe a la proteína p16INK4a**, la cual, en condiciones basales, frena la multiplicación celular. Además se reseña su efecto mutagénico, productor de aneuploidía y favorecedor de la integración del genoma viral en la célula huésped.

Las oncoproteínas E6 y E7 juegan un papel principal en el proceso de oncogénesis o de transformación maligna de las células epiteliales infectadas por virus del papiloma humano.

La región tardía **L** (Fig. 2), corresponde al 40% del genoma y contiene dos genes que codifican las proteínas estructurales de la cápside:

L1, produce una proteína de 54.000 Da que se genera a mayor cantidad, la cual se encuentra muy conservada entre los diferentes tipos de VPH.

L2 se produce en menor cantidad y es específica para cada tipo viral.

La región **LCR** (Figura 2), corresponde al 15% del genoma viral y contiene los promotores que inician la replicación y controlan la transcripción. Esta región se encuentra dividida en dos dominios: el RE2, regulado por la presencia de la proteína viral E2 y donde se localiza el origen de la replicación del ADN viral, y el dominio CE (*Celular Enhancer* = potenciador celular), un fuerte potenciador de la transcripción que depende exclusivamente de factores transcripcionales celulares.

En el dominio RE2 se encuentra el promotor temprano a partir del cual se transcriben los oncogenes E6 y E7. En este dominio se ha descrito el origen de la replicación del ADN viral, dependiente de la presencia de las proteínas virales E1 y E2.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

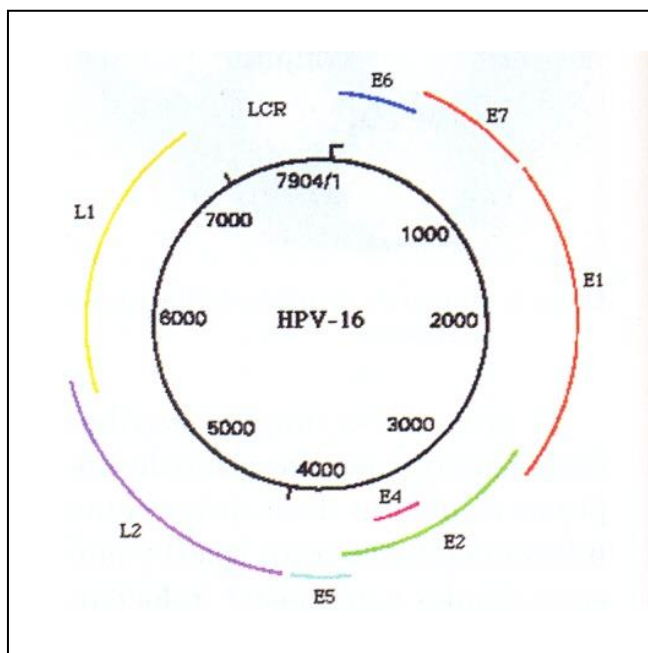


Figura 2. Mapa genético del Papilomavirus genotipo 16.

(Tomado del Curso de formación VPH y Cáncer del tracto genital inferior 2008. Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

Hasta el momento, se han secuenciado total o parcialmente los genomas de más de 100 VPH. Estos virus se clasifican en **tipos**, **subtipos** y **variantes** según la homología de la secuencia de bases del ADN del gen L1. Los distintos tipos de VPH tienen entre ellos una diferencia superior al 10% de su genoma. En los subtipos entre el 2 y 10% y en las variantes la diferencia es menor del 2%. De todos ellos, aproximadamente 40 tipos han sido aislados de lesiones del tracto genital inferior, y entre 14 y 20 han sido detectados en carcinomas(38;38). Hemos considerado 14 genotipos de VPH cancerígenos, sobre la base de la evidencia epidemiológica: VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68(39-42).

Así, subdividimos en genotipos VPH de alto riesgo (VPH-AR) y genotipos de bajo riesgo (VPH-BR):

Los genotipos de **alto riesgo** son los siguientes: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 66, 68 y 73.

Los genotipos de **bajo riesgo** son: 6, 11, 26, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 55, 62, 67, 70, 72, 81, 82, 83, 84, 89, 108, GP6108 y IS39.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

2.2.- La infección Viral(43): Fase latente, productiva y transformación.

Entre 1974 y 1976, los investigadores comenzaron a postular y analizar un posible papel del virus del papiloma humano (VPH) en el cáncer de cuello uterino. Harald Zur Hausen(44-46), en 1976 fue el primero en relacionar y estudiar al Papillomavirus Humano y su responsabilidad en la carcinogénesis del cérvix. En 1976, Meisels y Fortin (47;48) publican dos informes en los que describen que la aparición de coilocitos en frotis cervicales indica la presencia de una infección por virus del papiloma. Actualmente, hay una evidencia sustancial de que los genotipos oncogénicos del virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) son un agente etiológico importante en el desarrollo del CIN y, posteriormente, del cáncer de cuello uterino(49-55). Por tanto, la infección por el virus VPH, constituye el principal factor del CIN(56;57).

En las dos últimas décadas, tras numerosos estudios se ha demostrado que el virus del papiloma humano es el principal agente causal de la carcinogénesis cervical(49), principalmente los genotipos 16 y 18(49) . Esta infección se considera una causa necesaria, pero no suficiente. Existen otros cofactores que modulan el riesgo de progresión de la infección por el VPH a cáncer(58). Los estudios epidemiológicos y clínicos que han incorporado técnicas de biología molecular de alta sensibilidad (Captura Híbrida II (HC-II) o reacción en cadena de la polimerasa (PCR))(59), en muestras biológicas adecuadas, detectan VPH de alto riesgo u oncogénicos (VPH-AR) en prácticamente el 100 % de los cánceres cervicales, en el 70-90 % de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (*High-grade squamous intraepithelial lesions* (H-SIL))(60) , y en el 20-50 % en las de bajo grado L-SIL (*Low-grade squamous intraepithelial lesions*).

El número de genotipos de alto riesgo del virus del papiloma varía entre 13 y 19, y sólo 11 genotipos de VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, y 58) se clasifican consistentemente como de alto riesgo(61-64). Es necesario establecer criterios claros para la clasificación de los tipos de VPH en grupos de bajo riesgo y de alto riesgo. Estos criterios deben basarse en estudios epidemiológicos moleculares que proporcionan estimaciones de riesgo y la prueba funcional del potencial oncogénico de los diferentes tipos de VPH. Una clasificación de los tipos de VPH en función de su relación filogenética se ha propuesto(65), pero no ha sido probada epidemiológicamente.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

En 1995, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) concluyó que cuatro estudios de casos y controles arrojaron pruebas suficientes para clasificar los tipos de VPH 16 y 18, como carcinógenos humanos, pero la evidencia era limitada o inadecuada para otros tipos(66). Desde entonces, se han completado siete estudios de casos y controles adicionales en otras poblaciones, utilizando protocolos similares y ensayos de ADN de detección del VPH. En el estudio de Muñoz et al(42;61-64), se presentaron los datos agrupados a partir de 11 estudios. Estos resultados forman la base para una clasificación epidemiológica de los tipos de VPH asociados con el cáncer cervical, que puede ser comparada con la clasificación filogenética. Esta información es esencial para la planificación de la prevención mediante vacunas contra el VPH y de los programas de cribado basados en la prueba del VPH. En consecuencia, entre los 33 tipos de VPH que se probaron específicamente, los tipos 16, 31, 33, 35, 52, y 58 (todos ellos pertenecientes al grupo A9); 18, 39, 45, 59, 68, y 70 (grupo A7); 26, 51 y 82 (grupo A5); y 53, 56 y 66 (grupo A6) fueron clasificados como **filogenéticamente tipos de VPH de alto riesgo**.

Por el contrario, los tipos 6, 11 y 44 (grupo A10); 34 y 73 (grupo A11); 40 y 43 (grupo A8); 42 (grupo A1); 61, 72, 81, 83, 84 y CP6108 (grupo A3); y 57 (grupo A4) fueron clasificados como tipos de VPH de bajo riesgo. Muñoz et al(42;61-64), concluyen en su estudio con una **clasificación epidemiológica**, con base en los odds ratios VPH de tipo-específica y la prevalencia del VPH entre los pacientes y los controles. Así, identificaron 15 tipos de VPH como **genotipos de alto riesgo** (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82). Tres tipos (26, 53, y 66) que deberían ser considerados como genotipos de **alto riesgo probables** y doce tipos (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, y CP6108) como de **bajo riesgo**.

En trabajos de seguimiento(67-70) realizados sobre mujeres infectadas por los virus de alto riesgo (VPH-AR), cuya citología inicial fue negativa, muestran notables diferencias en la progresión a H-SIL, según el tipo de VPH-AR presente al inicio del estudio. Así, los serotipos 16 y 18 tienen mayor riesgo de progresión. Un número considerable de estudios de casos-controles y prospectivos, apuntan a los virus VPH de alto riesgo y a la persistencia de su infección, como el principal factor de riesgo para el cáncer cervical(71;72).

Por otra parte, diferentes estudios establecen que las lesiones L-SIL, inmunonegativas para p16, son lesiones causadas por VPH de bajo riesgo(21;22;33;58;73).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Estas infecciones están muy extendidas entre los hombres y las mujeres jóvenes (< 25 años) y por lo general se resuelven espontáneamente(74). Aproximadamente el 20 % de mujeres menores de 30 años de edad tienen una infección por el virus del papiloma humano. Sin embargo, la mayoría de ellas regresan espontáneamente al activarse las respuestas inmunológicas naturales(75-78). En mujeres mayores de 30 años, la tasa de infecciones se reduce de forma considerable y varía entre el 5-10%(28;79;80). En mujeres de edades medias, alrededor del 70-80% de las infecciones prevalentes por VPH se aclaran en 2-3 años(80). Aproximadamente, el 10% de las infecciones agudas persisten(79). Sólo unos pocos de los individuos infectados inicialmente desarrollarán lesiones(79;80).

La infección por los virus VPH requiere de la disponibilidad de células epiteliales de la epidermis o de la mucosa que todavía son capaces de proliferar (células de la capa basal) (Figura 3)(53). La gran mayoría de las lesiones neoplásicas causadas por los virus VPH se localizan en la unión escamo columnar del cuello uterino (Figura 4)(28). Esto implica que las células diferenciadas situadas dentro de esta zona son particularmente propensas para el desarrollo de cánceres relacionados con el VPH(81). La evidencia reciente sugiere que estas células pueden derivar de restos embrionarios de células epiteliales(82). Así, cuando los virus alcanzan las células basales del epitelio cervical (favorecido por posibles disrupciones, micro traumas o fallas en el epitelio genital), pueden permanecer en ellas de **forma episomal**, es decir, en **estado latente** (Figura 5). La infección temprana con VPH-AR está latente, y la mayoría de las infecciones regresan dentro de los primeros 6 meses(55). La población viral no productiva o latente, se localiza en el estrato basal del epitelio, en el cual se mantiene la replicación del ADN viral en un número de copias bajo (30-50 copias por célula infectada), en forma extra cromosómica, llamados episomas que se estructuran en base a histonas (son proteínas nucleares que se unen fuertemente al ADN) y material genético. Se piensa que durante esta etapa se aseguraría que el ADN viral se distribuya difusamente por las células basales proliferantes y que al mantener un número reducido de copias se impediría la activación de la respuesta inmune. Las células basales proliferante migran a los estratos para basales y espinosos (Figura 3), amplificándose la expresión de genes virales tempranos a través de la región no codificante (URR), los cuales permiten producir ADN en cantidad de cientos de copias por célula. A esta etapa del ciclo viral se le conoce como **fase proliferativa** o **productiva** (Figura 5). Es posible que durante esta etapa de amplificación del genoma viral se produzca una mayor diseminación de la progenie viral, siempre que las proteínas de la

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

cápside viral (L1 y L2) hayan sido sintetizadas, formando con el ADN viral nuevos viriones infectantes.

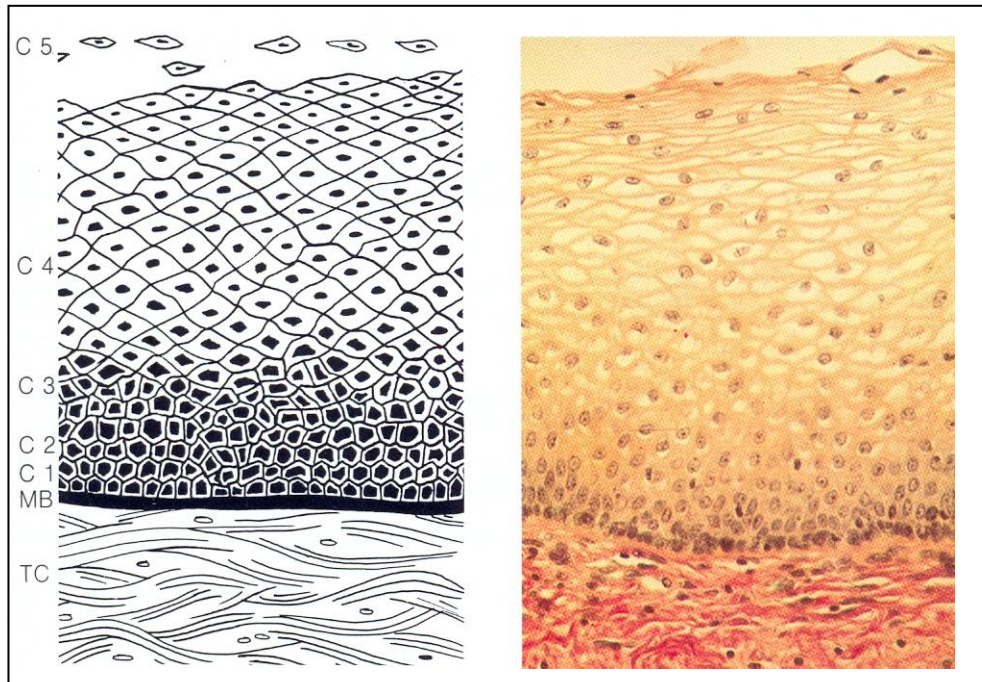


Figura 3. Esquema de las diferentes capas del epitelio escamoso cervical.
Tomada del libro "Colposcopia Práctica" René Cartier.

TC: Tejido conjuntivo. MB: Membrana basal. C1: Capa basal interna. C2: Capa basal externa.
C3: Capa intermedia. C4: Capa superficial. C5: Capa de descamación.



- 1: Epitelio pavimentoso, escamoso, pluriestratificado.
- 2: Mucosa glandular, con epitelio cilíndrico, monoestratificado.

Flechas: unión escamo-cilíndrica.

Coloración de Van Gieson (x8).

Figura 4. Corte Histológico, sagital, del cuello de útero.
Tomada del libro "Colposcopia Práctica" René Cartier.

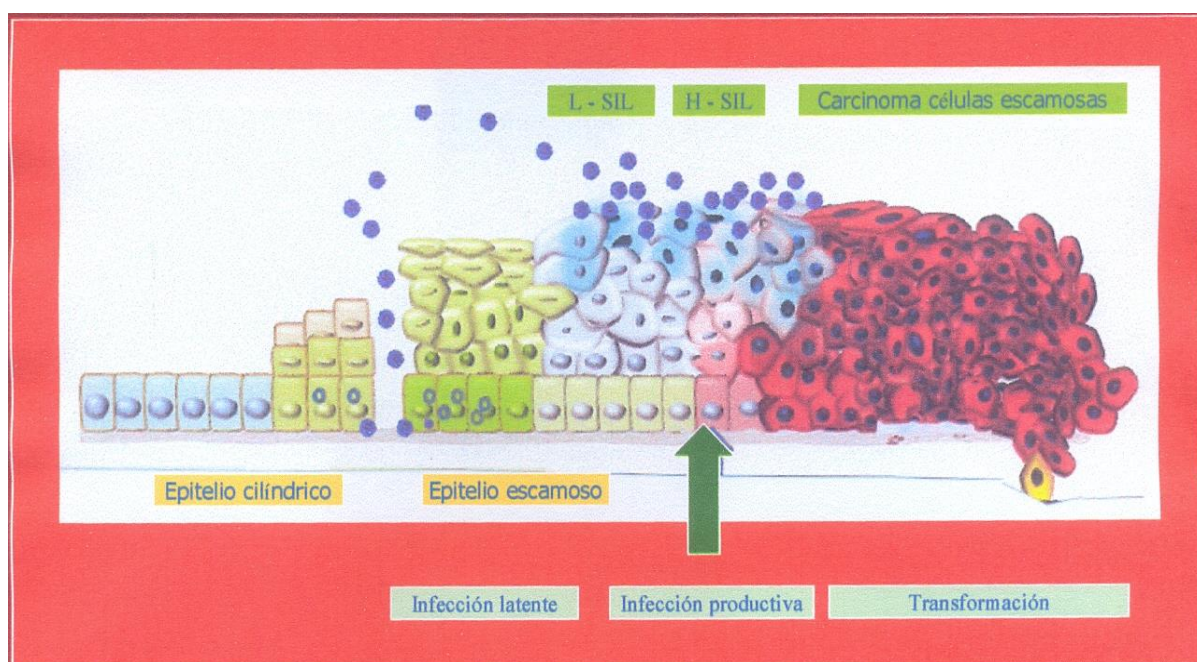


Figura 5. Representación esquemática de los distintos estados de la infección por el virus VPH en el epitelio cervical.

Modificado de von Knebel Doeberit y Vinokurova, 2009.

En determinadas circunstancias de permisividad inmunológica(83) y tras un periodo de persistencia de la infección, generalmente largo, las partículas de ADN viral sufren un proceso de integración dentro del genoma celular, también llamado **fase de transformación** (Figuras 5 y 6)(49-53;53). Se ha demostrado que la integración del genoma viral en el de la célula huésped, es un acontecimiento importante en la activación de la mayoría de los casos de CIN y eventualmente de cáncer(55).

De este modo, paralelamente a la maduración del epitelio cervical, los VPH expresarán sus genes de forma secuencial: en primer lugar, los genes tempranos (E1 - E8), en las capas basales, y posteriormente las proteínas tardías(35), en las capas del epitelio más diferenciado, donde se formará la cápside, permitiendo así el ensamblaje de nuevas partículas virales que repetirán el ciclo(43).

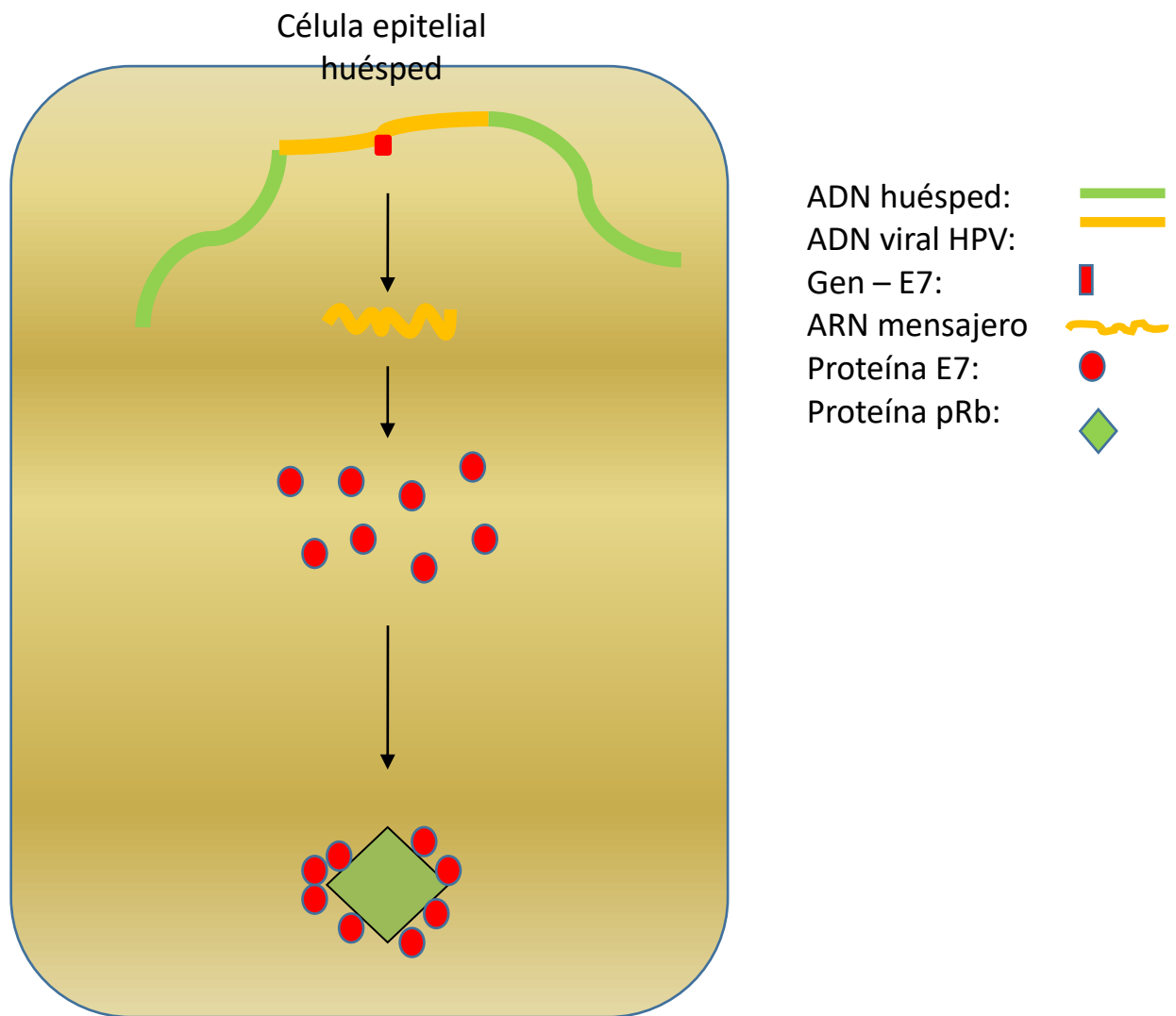


Figura 6. Integración viral en la célula huésped.
Elaboración propia.

Tres genes virales del VPH tienen capacidad estimulante de la proliferación celular: E5, E6 y E7.

E5 parece ser importante en el curso precoz de la infección. Estimula el crecimiento celular mediante la formación de un complejo con el receptor del factor de crecimiento epidérmico, con el receptor del factor β de crecimiento, derivado de plaquetas, y con el receptor del factor 1 estimulante de colonias(84). E5 también se ha demostrado que previene la apoptosis después de daños en el ADN(85). Sin embargo, E5 no es obligatorio a finales de eventos de la carcinogénesis mediada por VPH, pues su secuencia de ADN se elimina cuando el virus se integra en el huésped(86).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Un papel más significativo para la transformación maligna se puede asignar a los genes **E6** y **E7** y sus respectivas proteínas(49). Ellos son de forma independiente capaces de inmortalizar diversos tipos de células humanas en cultivo de tejidos, pero la eficiencia se incrementa cuando que se expresan en conjunto(87;88). Así, el paso clave en la patogénesis de los cánceres ligados al virus VPH es la activación de los oncogenes virales E6 y E7 en las células basales y para basales del epitelio infectado(81). Estos genes virales si se expresa en las células basales o para basales desencadenan inestabilidad cromosómica y las principales alteraciones numéricas y estructurales en los cromosomas de la célula huésped(89;90). Estas modificaciones en el genoma (distribución desigual del contenido total de ADN) se traducen fenotípicamente en cambios del patrón de tinción nuclear (intensidad de tinción) y finalmente en la morfología general de los núcleos de las células epiteliales escamosas. Dichos cambios morfológicos producidos por la infección VPH formaron parte del fundamento de la prueba de Papanicolaou(91).

Dentro del ADN de los virus VPH-AR existe una **región** llamada **LCR** (Figura 7) que regula la transcripción de los genes tempranos E6 y E7. Dicha región LCR está a su vez frenada por el gen represor **E2**. Cuando el ADN viral se integra en el genoma de las células del epitelio cervical, a nivel del gen E2, se produce una disrupción de este gen (Figura 8) y pierde su capacidad de freno sobre la región LCR(53;55). Así, esta región activa la transcripción de las proteínas E6 y E7. La sobreexpresión de estas proteínas bloqueará a los supresores de tumores p53 y pRb respectivamente (Figura 9), dando lugar al proceso de transformación neoplásica(54;92-97).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

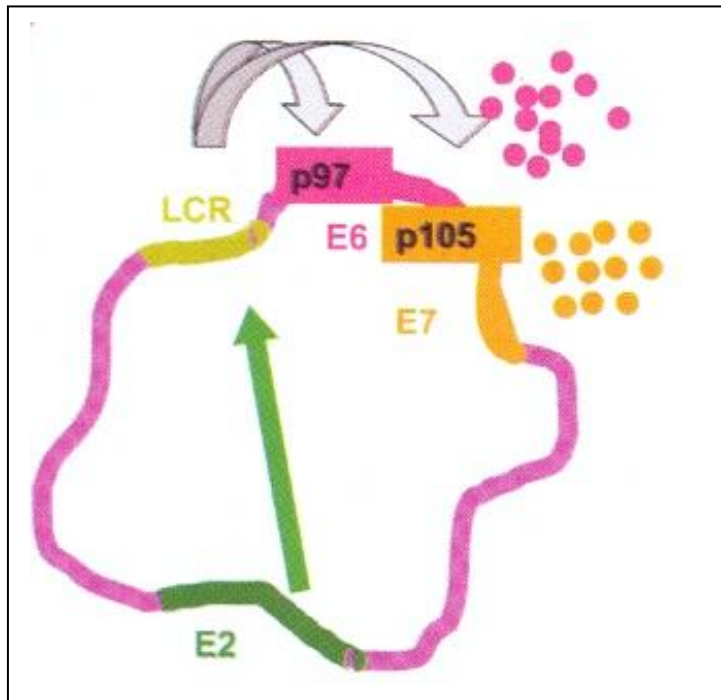


Figura 7. Interacción entre el gen E2 y la región LCR del ADN viral.

(Tomado del Curso de formación VPH y Cáncer del tracto genital inferior 2008. Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

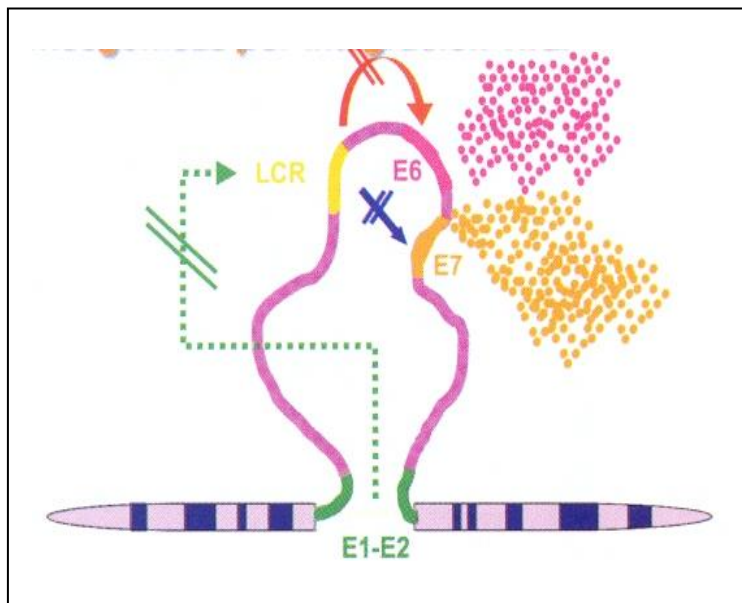


Figura 8. Integración del ADN del virus VPH en el genoma de la célula huésped.

(Tomado del Curso de formación VPH y Cáncer del tracto genital inferior 2008. Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

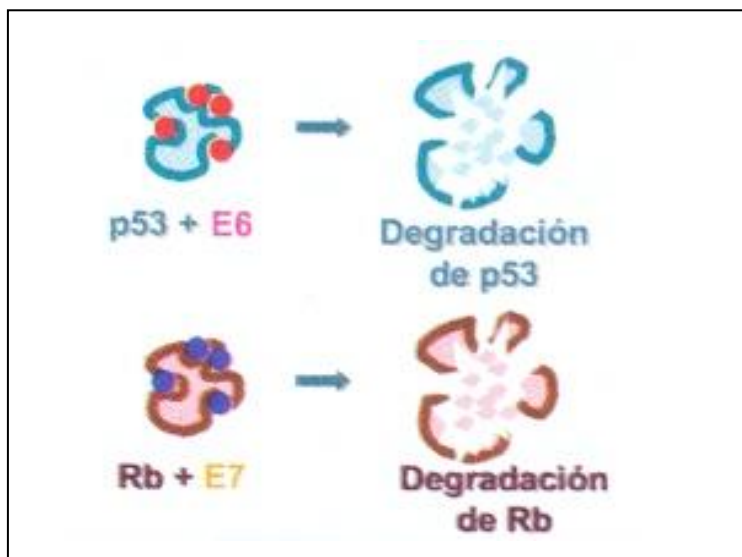


Figura 9. Degradación de p53 y Rb por las oncoproteínas E6 y E7.

(Tomado del Curso de formación VPH y Cáncer del tracto genital inferior 2008. Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

Algunas de las funciones prominentes de la proteína **E6** se originan a partir de su interacción, seguido de la degradación de p53 y la proteína pro-apoptótica BAK 34, lo que se traduce en la resistencia a la apoptosis y un aumento en la inestabilidad cromosómica(49;98).

E7, sin embargo, interactúa con la proteína pRb (mediante fosforilación) y la degrada, la cual libera el factor de transcripción E2F **y sobre expresa P16 INK4a** (Figura 11)(49;73;94;95;99-102). Por tanto, el lanzamiento de proteína pRb fosforilada da lugar a una **sobreexpresión de P16 INK4a, cuya función queda inactivada** por E7 (49;94). Por otra parte, E7 estimula la fase S de los genes de ciclina A y ciclina E (103) , y parece bloquear la función de los inhibidores de quinasas dependientes de ciclina WAF1 (también conocido como CIP1 y p21) y KIP1 (también conocido como p27)(104-106).

E6 y E7 pueden immortalizar independientemente células humanas, pero con menor eficiencia que si actúan de forma complementaria y sinérgica(107;108). Se ha demostrado que sólo los genes E6 y E7 de los tipos virales VPH de alto riesgo fueron capaces de immortalizar células humanas en cultivo de tejidos(88;109). En líneas de células que han sido infectadas con ADN **E6**, **el gen CDKN2A**, que codifica P16 INK4a, está comúnmente inactivado por metilación, mutación o eliminación(49). La interrupción de la función del gen CDKN2A en las células E6-inmortalizadas, indica que P16 INK4a pueden interferir funcionalmente con la transformación de la actividad de E6(110).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Tras la primera infección de las células del epitelio cervical por VPH, se desencadenan una serie de respuestas inespecíficas acompañadas de procesos inflamatorios, quimio atracción de neutrófilos, activación de macrófagos, intervención de células natural killer (NK), de anticuerpos naturales, e incluso del sistema del complemento, que formarán una primera barrera defensiva de **inmunidad inespecífica**. La persistencia de la respuesta en el tiempo y la protección frente a futuras infecciones requiere de mecanismos de **inmunidad específica**. Así, en el epitelio cervical existen células específicas con capacidad de actuar como presentadoras de antígenos, siendo las células reticulares de Langerhans las verdaderas especialistas en este proceso de presentación antigénica. Dichas células fagocitan las partículas virales para digerirlas en endosomas y comenzar un proceso que incluye la presentación en superficie de cadenas polipeptídicas del antígeno junto con HLA de clase II, CD40 y B7 y emigrar a los ganglios linfáticos locales. Estas células activadas serán reconocidas por los linfocitos T CD4, que serán activadas a su vez, si reconocen todas las moléculas de superficie implicadas (HLA de clase II, el polipéptido viral, CD40 y B7). Los linfocitos T CD4 activados evolucionarán a linfocitos helper, en el contexto local de expresión de ciertas interleuquinas (IL), de tal modo que si predominan las de tipo IL-12 se promoverá la diferenciación hacia una vía Th1 que inducirá la activación y proliferación de los linfocitos T CD8 citotóxicos específicos (CTL 8), la producción de IL-2 y γ -Interferón. Si por el contrario, en el contexto local no se expresa IL-12, se promoverá la vía Th 2 que inducirá la activación y expansión de linfocitos B, que evolucionarán diferenciándose hacia células plasmáticas productoras de anticuerpos frente a las proteínas virales y a la expresión de interleuquinas de tipo IL-4, IL5, IL6, IL10. Una vez activados los linfocitos T y B deberán reconocer a las células infectadas, en el contexto del HLA de clase I. Los estudios actuales concluyen que la asociación entre HLA y carcinoma cervical es controvertida, siendo necesario identificar alelos HLA o haplotipos que tengan susceptibilidad aumentada para desarrollar cáncer cervical asociado al VPH de alto riesgo(111-113).

Por otra parte, el **control paracrino** se activa por los macrófagos y las citoquinas, así como por el factor de necrosis tumoral alfa, y por la pérdida de la síntesis de interferón beta(49).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Gyllensten y colaboradores(114) mostraron la existencia de cierta **predisposición genética** para el cáncer de cuello uterino mediante el aprovechamiento de datos del Registro Sueco de Cáncer. Hubo un significativo mayor riesgo para las hijas naturales en comparación con hermanas adoptadas. Otros estudios(115) afirman que existe, en un porcentaje reducido de mujeres, una **susceptibilidad familiar** para desarrollar cáncer de cérvix y otras neoplasias relacionadas con el virus del papiloma humano.

Recientemente se ha demostrado que, si bien el proceso de integración viral es un evento favorecedor de la transformación neoplásica, indicador de infección persistente y favorecedor de estabilización del fenotipo tumoral, no debe ser considerado como necesario para la inducción de la transformación celular ya que en ausencia de esta integración también se puede llegar a modificar la célula por mecanismos distintos de desregulación de la expresión de E6 y E7. Incluso, la expresión basal de estas proteínas, en casos de cargas virales altas, puede ser suficiente para desencadenar el proceso de transformación neoplásica(116). Así, se ha demostrado que la transformación neoplásica puede iniciarse con o sin integración viral poniendo en evidencia diferentes vías biológicas para el proceso de oncogénesis(117). Existe un porcentaje de lesiones tumorales, no despreciable, en el que no se ha demostrado integración viral o bien coexisten las formas episomal e integrada. Por tanto, sea por procesos de integración viral o por la intervención de rutas biológicas diferentes, la pérdida de E2, represor de la transcripción viral, desregula la expresión de los genes VPH E6/E7, siendo las proteínas E6 y E7 las únicas proteínas virales que se expresan constantemente en los carcinomas cervicales asociados al VPH, y su expresión es esencialmente necesaria para iniciar y mantener el fenotipo maligno(118;119).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

2.3.-. Regulación del ciclo celular. Mecanismos de oncogénesis.

Los papilomavirus humanos, al igual que otros virus, aprovechan la maquinaria de la célula huésped para replicarse.

El **ciclo celular** (Figura 10) de las células eucariotas se divide en las fases **G1** (crecimiento celular), **S** (Síntesis de ADN), **G2** (Preparación para la división celular) y **M** (Mitosis o división celular). Existe una fase llamada **G0** en la que las células permanecen en estado quiescente o de reposo antes de entrar en las fases de síntesis. La fase G0 tiene una duración variable según el tipo celular del que hablemos(120).

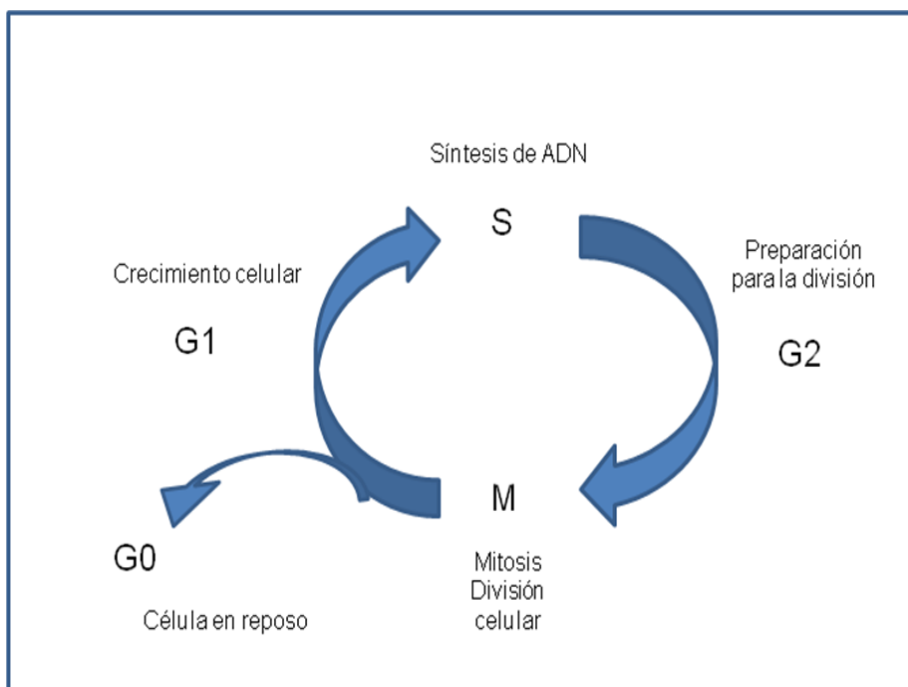


Figura 10. Ciclo celular de las células eucariotas.
Elaboración propia.

El cáncer se considera cada vez más como una **enfermedad del ciclo celular**. Así, el **concepto de cáncer como enfermedad del ciclo celular** implica que cada tumor es defectuoso en uno o más aspectos del control del ciclo celular, siendo esto un paso esencial en los múltiples procesos de la tumorigénesis(121). Hanahan y Weinberg han sugerido que todos los fenotipos de cáncer son la manifestación de las seis alteraciones fisiológicas esenciales tipo compartidas por la mayoría, o quizás todos, los tumores humanos(122;123).

El ciclo celular está regulado por una serie ordenada de **proteínas kinasas dependientes de ciclinas** (CDK: *cyclin-dependent protein kinases*), sus subunidades reguladoras positivas (ciclinas A, B, D1-2-3 y E1-2) y sus inhibidores (inhibidores de kinasas dependientes de ciclinas)(124;125). Estas moléculas regulan el sensible periodo **entre mediados y finales de G1**, fase que representa la **restricción (R)**, un período de G1, cuando la progresión del ciclo celular se vuelve independiente de factores de crecimiento en las células cultivadas. ¿Por qué los defectos en esta etapa del ciclo celular, en lugar de las fases S, G2 o M, proporcionan tal ventaja de crecimiento a las células tumorales? Aunque especulativamente, en la actualidad, esta preferencia puede reflejar el decisivo papel de G1/S en los acontecimientos. En la fase S, las células replican su ADN, de modo que las células hijas contienen la misma dotación genética. La duplicación del genoma requiere una enorme cantidad de energía y da lugar a células tetraploides. Es por lo tanto, no es sorprendente, que las células en esta fase ya se han comprometido a continuar con el ciclo celular a menos que problemas catastróficos afecten la progresión a lo largo de las otras fases del ciclo celular. Si estas catástrofes sucedieran, el control de la progresión del ciclo celular sería asumido por los puestos de control apropiados. Antes de comenzar la fase S, sin embargo, las células tienen que asegurarse de que las condiciones ambientales son apropiadas para la división celular.

Esta decisión se toma por una serie de procesos y mecanismos reguladores que reciben estímulos mitogénicos y que controlan el paso por el **punto R**(122-126).

La **fase G1** temprana es estimulada por la familia de la ciclina D unida a CDK4 y CDK6 (Figura 11). En el siguiente paso del ciclo, la transición G1-S, es promovida por la ciclina E-CDK2 (Figura 11).

La **fase S** es estimulada por la ciclina A-CDK2 y posteriormente el **paso G2-M** es estimulado por la ciclina B/A-CDK2(124;125). La mayoría, si no todos, los cánceres humanos muestran un control desregulado en la progresión de G1, período en el que las células deciden si iniciar la proliferación o permanecer en reposo. Defectos en los reguladores a nivel de S, G2 o M son poco probable que conduzcan a un programa completo de la división del ciclo celular(127;128).

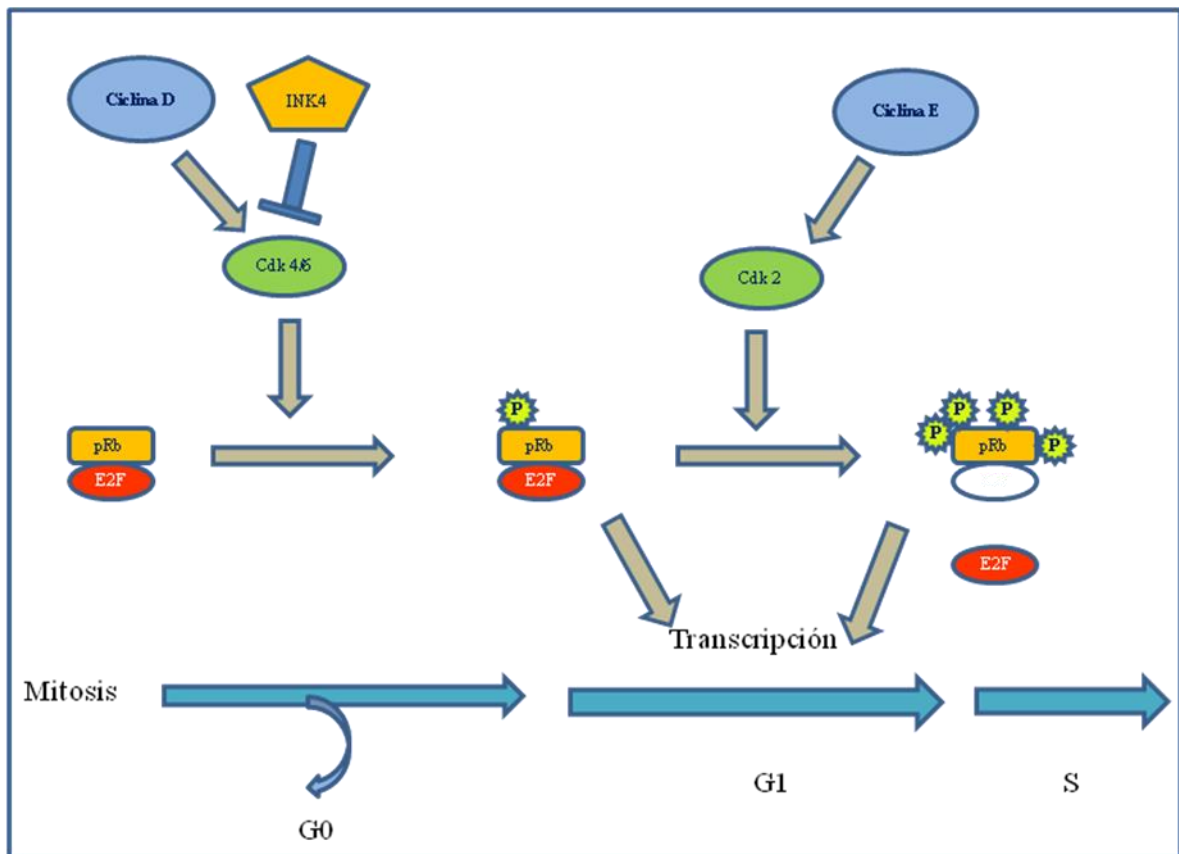


Figura 11. Control de progresión de la fase G1 y de la transición de la fase G1 a S por las Kinasas Cdk 4/6 y Cdk 2.

Elaboración propia.

- Las **Kinasas dependientes de ciclinas (Cdk)** son: Cdk4, Cdk6 y Cdk2.
- La **familia INK4** son **inhibidores de los Cdk** y está formada por: **P16**, P15, P18 y P19.
- Los miembros de los **factores de transcripción** están compuestos por los **E2F** del 1- 5.

Las células epiteliales, al ser infectadas por los virus VPH-AR, activan su mecanismo de defensa celular, consistente en una revisión de la secuencia de ADN antes de dividirse. Cuando la célula identifica el ADN viral intenta reparar el error y, dado que este ADN es excesivamente grande como para ser eliminado, las proteínas p53 y del retinoblastoma Rb (pRb) dirigen la célula infectada a una "muerte celular programada" o **apoptosis**, y evitan así que esta célula sirva de propagadora de la infección. Los virus VPH-AR se protegen de este mecanismo de muerte celular programada sintetizando unas proteínas que bloquean este sistema de defensa celular. Así, el gen E7 transcribe una oncoproteína, del mismo nombre, capaz de bloquear a pRb del ciclo celular (Figura 6), impidiendo la apoptosis de la célula

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

huésped, lo que le permite seguir usando la maquinaria celular para producir nuevas partículas virales(24)

Se ha demostrado que la mayoría, si no todos los tumores, pierden el control de la G 1/S transición a través de alteraciones en la vía pRb (129;130). La **función de las Proteínas pRb es la represión de la transcripción** a través de la unión y la inactivación de los factores de transcripción, tales como los E2F (E2F 1-5) (Figura 11), la unión a las acetilasas de la histona(131) y a los complejos de remodelado de la cromatina(132;133).

Recordemos lo expuesto en el apartado 2.2, en el que recogimos que **E7** interactúa con la proteína pRb (fosforilación) y la degrada (Figura 9), la cual libera el factor de transcripción E2F y **sobre expresa P16 INK4a** (Figura 11)(49;73;94;95;99-102). Por tanto, el lanzamiento de proteína pRb fosforilada da lugar a una **sobreexpresión de P16 INK4a, cuya función queda inactivada** por E7(49;94).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

2.4.- Mecanismos de acción de la proteína P16 INK4a.

El **gen supresor tumoral CDKN2A**, localizado en el brazo corto del **cromosoma 9** (9p21), codifica la proteína P16 INK4a (49).

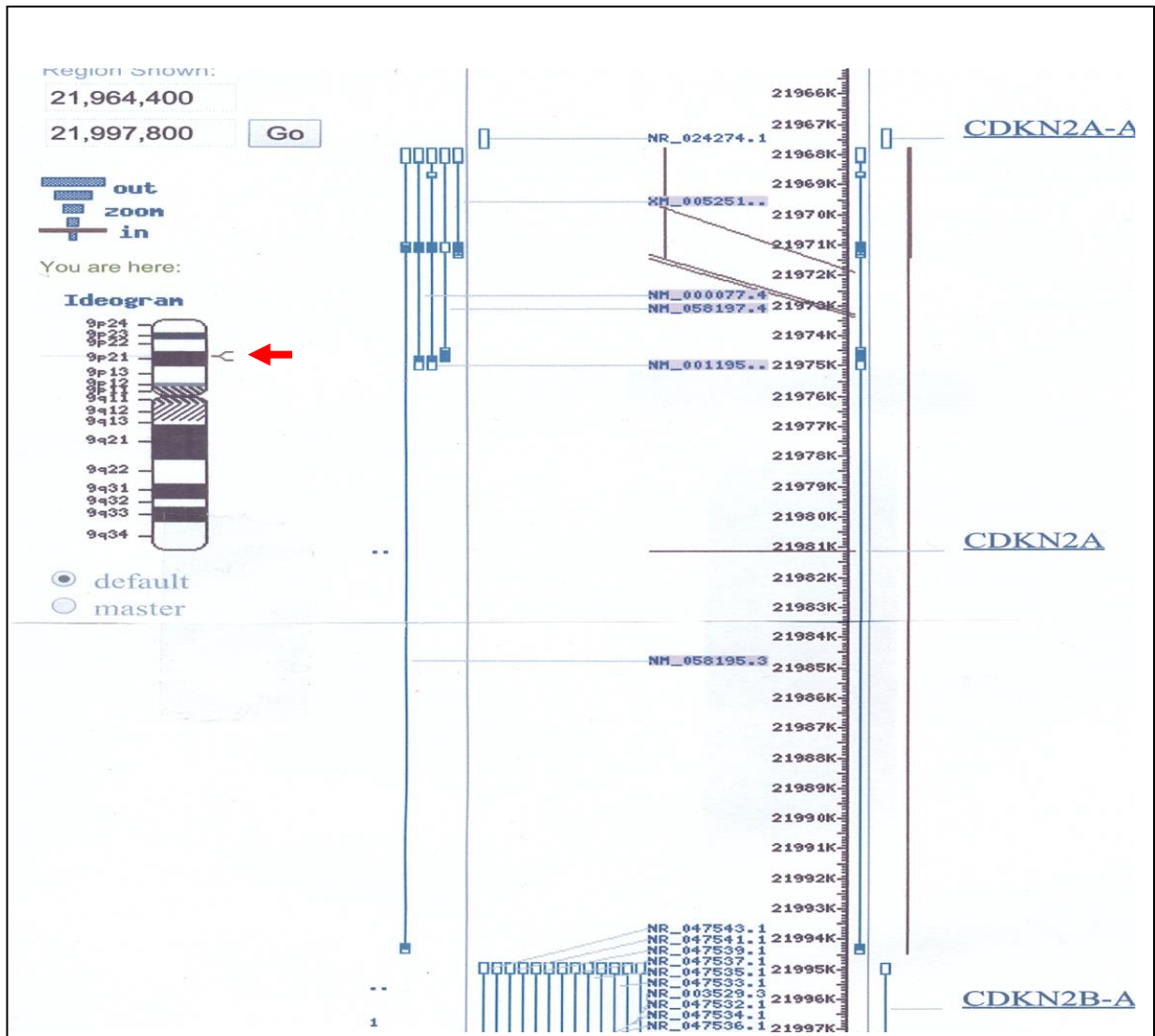


Figura 12. Representación del Gen supresor tumoral CDKN2A, localizado en el cromosoma 9 (9p21).
Tomada de NCBI: Human genome overview page 105-106.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

El **gen CDKN2A(134;135) p16** tiene un papel importante en la regulación del ciclo celular. Las mutaciones en p16 aumentan el riesgo de desarrollar diversos cánceres, especialmente melanomas. El gen CDKN2A genera diversas variantes transcripcionales que difieren en sus primeros exones (El **exón** es la región de un gen que no es separada durante el proceso de “corte y empalme” y, por tanto, se mantienen en el ARN mensajero maduro. En los genes que codifican una proteína, son los exones los que contienen la información para producir la proteína codificada en el gen. En estos casos, cada exón codifica una porción específica de la proteína completa, de manera que el conjunto de exones forma la **región codificante** del gen). En eucariotas, los exones de un gen están separados por regiones largas de ADN (llamadas intrones) que no codifican. Se han descrito al menos tres transcritos diferentes que codifican distintas **isoformas de la proteína P16**, dos de los cuales se sabe que actúan como inhibidores de la quinasa dependiente de ciclina 4 (Cdk4). El otro transcrito incluye un primer exón alternativo situado 20 kilobases corriente arriba respecto del resto del gen. Este transcrito codifica una proteína no relacionada estructuralmente con las otras isoformas. Este producto génico funciona como un estabilizador de la proteína supresora de tumores p53 cuando interacciona y secuestra a Mdm2, una proteína responsable de la degradación de p53. A pesar de las diferencias estructurales y funcionales, las isoformas inhibidoras de Cdk y el producto génico alternativo de este gen, por medio de sus papeles como reguladores de Cdk4 y p53 en la progresión del ciclo celular, comparten una funcionalidad común en el control de la fase G1 del ciclo celular. Este gen se encuentra frecuentemente mutado o deleccionado en una amplia variedad de tumores, y es conocido por ser un importante gen supresor de tumores. Se han asociado **mutaciones del gen CDKN2A** con el incremento del riesgo de padecer una serie de cánceres y de hecho, se han observado frecuentemente alteraciones de este gen en líneas celulares cancerígenas(136;137). Entre los ejemplos descritos cabe destacar:

- Cáncer de páncreas y melanomas: a menudo está asociado con **mutaciones** en el gen CDKN2A(138-144).
- **Delección** homocigota de p16: esta delección puede encontrarse frecuentemente en líneas celulares de cáncer de esófago y cáncer de estómago(145-147).
- **Metilaciones** del gen CDKN2A(148) se han asociado con el proceso de carcinogénesis cervical. Por tanto, tiene valor diagnóstico en el cáncer de cérvix uterino.

La **proteína P16 INK4a** (Figura 13) es un inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (CDK), que ralentiza (“frena”) el ciclo celular mediante la unión a CDK4 o CDK6, hecho que supone la fosforilación de pRb (Figura 11)(94;95;97;101;134;149-156;156).

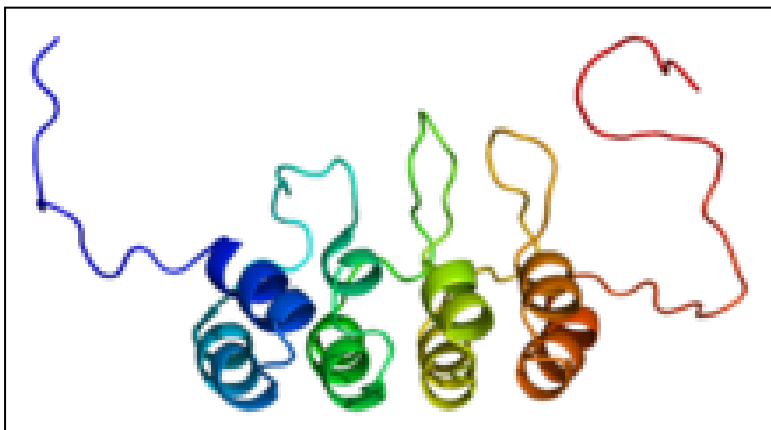


Figura 13. Estructura tridimensional de la Proteína P16.
Tomado de Wikipedia.

Generalmente, la proteína P16 INK4a se sobre expresa en las células de los organismos de edad y en los tejidos que envejecen(157;158). En las células normales somáticas, la sobre expresión de P16 INK4a se traduce en la detención inmediata del ciclo celular y de la condensación de la cromatina. Por tanto, P16 INK4a protege a las células somáticas de incurrir en daños genómicos(159).

La **pRb** es la principal inhibidora del ciclo celular, al mantener inactivos los factores de transcripción, como el E2F (Figura 11), que puede activar genes necesarios que inducen la entrada de la célula en el ciclo replicativo y, por tanto, controla la división celular(95;160) (Figura. 10).

Como hemos referido arriba, **P16 INK4a se inactiva en muchos tipos de cáncer** (mama, páncreas, colon, melanomas malignos, etc.) a través de la mutación, delección, hipermetilación o silenciamiento epigenético del gen **CDKN2A**, lo que resulta en una expresión reducida o ausente del producto de dicho gen, la proteína P16 INK4a(161-168). Esto conlleva a una mayor actividad de CDK4 y CDK6 y en consecuencia a la fosforilación prematura de pRb y a su inactivación (Figura 11). Si la pRb se inactiva directamente, ya sea

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

en el ácido nucleico o a nivel de proteína, las células respectivas se liberan de estímulos supresores mediados por el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina P16 INK4a.

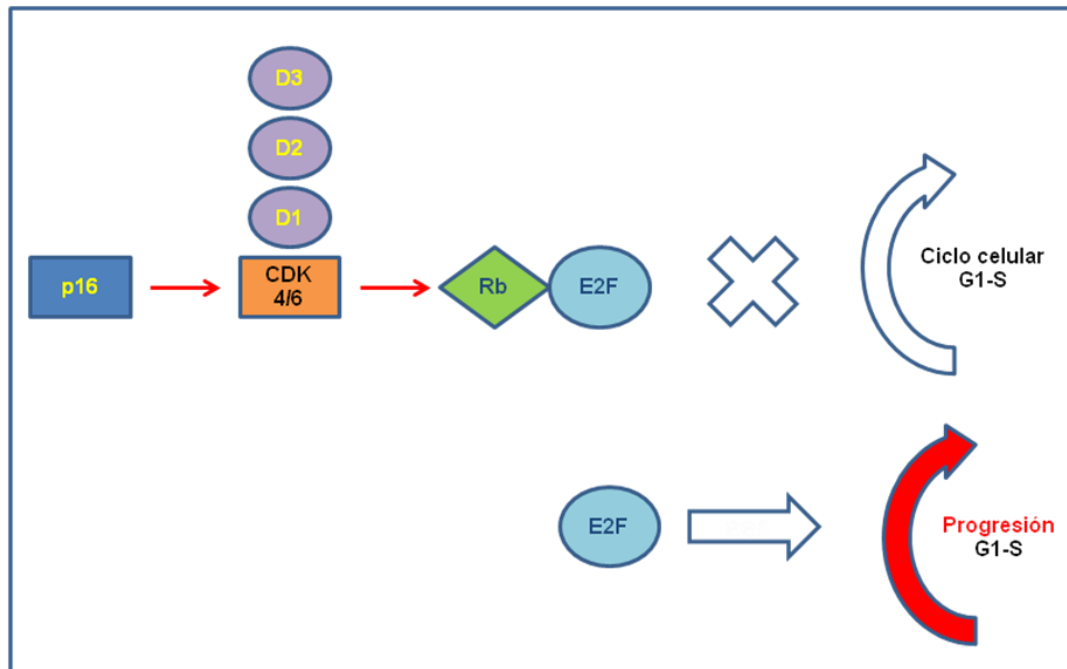
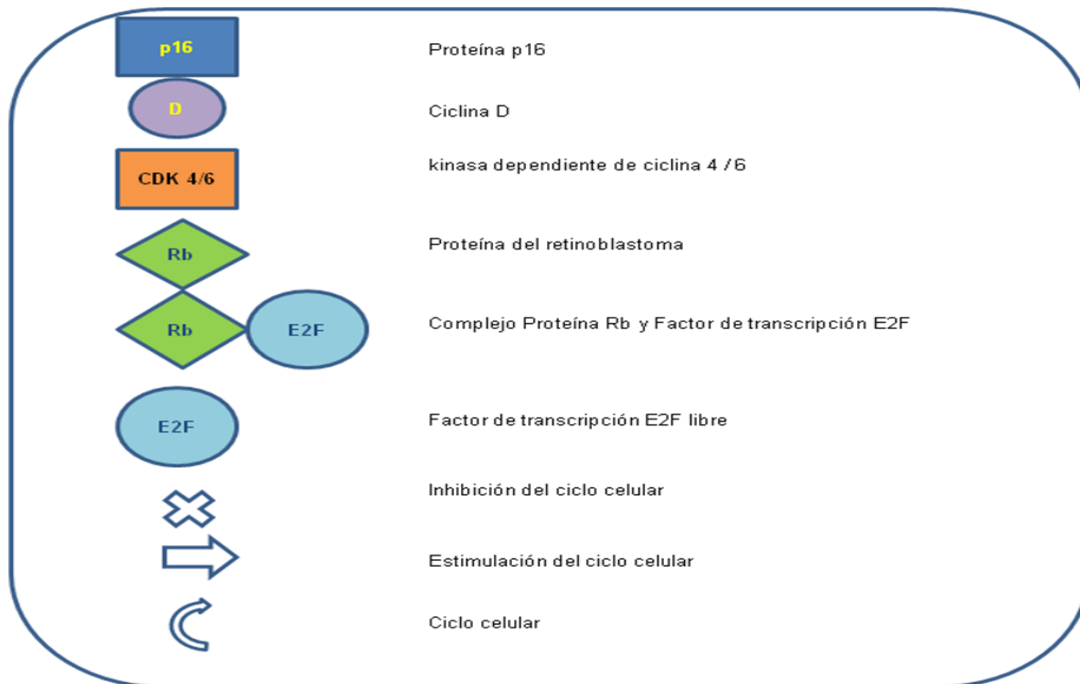


Figura 14. Interacción de la Proteína P16 con las CDK 4/6 y su repercusión con el Complejo Proteína del Retinoblastoma/Factor de Transcripción E2F.
Elaboración propia.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

La **oncoproteína E7** de los virus VPH-AR inactiva la proteína pRb(169). Así, al quedar libre el factor de transcripción E2F se estimula la evolución de la fase G1 a la S del ciclo celular(95). (Figuras 14 y 15). Por tanto, la interrupción de pRb por E7 resulta en la **acumulación de E2F**, tras su liberación. Esto incrementa los niveles de p16 (Figura 16) a través de un mecanismo de **retroalimentación positiva**(170).

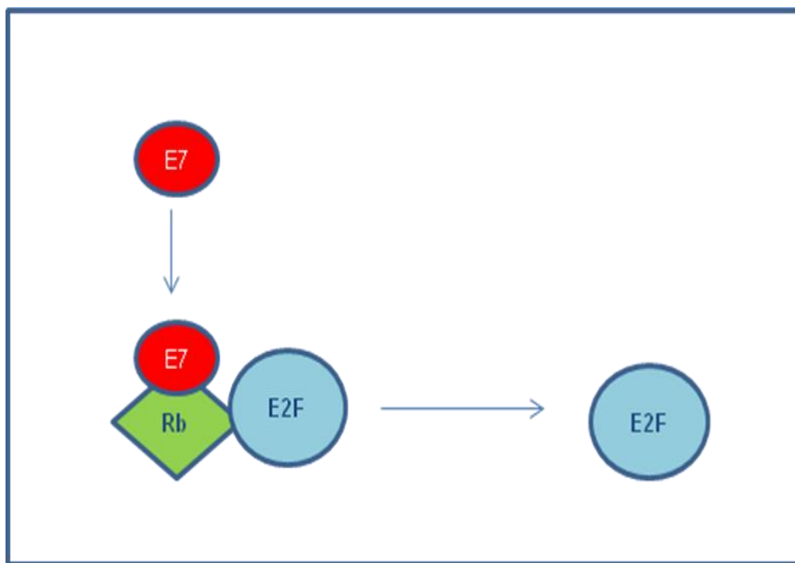


Figura 15. Inactivación de pRb por la oncoproteína E7. Liberación de E2F.
Elaboración propia.

Por otra parte, la **pRb** regula las concentraciones de P16. Es decir, que en la expresión de P16 INK4a subyace también un control de **retroalimentación negativa** a través de pRb(94;171). Así, funciones de pRb reducida o anuladas darían lugar a niveles de P16 INK4a elevados. Tomados en conjunto estos datos, sugieren que la **inactivación de pRb** a través de la oncoproteína **E7** conduce a una **mayor expresión de P16 INK4a**, que podría por lo tanto representar un biomarcador específico y sensible de las células con expresión de oncogenes activos del virus del papiloma (73;99;172).

Sin embargo, **algunos** investigadores(173-176) reportaron una **disminución o la ausencia de la expresión de P16 INK4a** en células de **cáncer cervical**. La probable explicación podría ser el silenciamiento de P16 a través de **mecanismos epigenéticos** como la **metilación del promotor** o por medio de los **mecanismos genéticos** tales como la eliminación o pérdida de heterocigosidad. También se han comunicado estudios donde se

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

recogen casos de **SIL de alto grado** que no expresan P16 INK4a(177-180). Esta falta de inmunoreactividad se correlaciona con la **hipermetilación del promotor**. Los autores llegaron a la conclusión de que el silenciamiento de genes p16 durante el CIN no fue un evento raro y no se corresponde con cualquier estado de VPH o clasificación de CIN. Así, Kang y colaboradores describieron que el 35,7% y el 28% de casos de CIN II y CIN III, respectivamente, fueron negativos para la expresión de P16(181).

Otros autores observaron la sobre expresión esperada de P16 INK4a en las células transformadas por el virus VPH, el cáncer cervical y en lesiones precursoras preneoplásicas(73;95;96;181-183). La evidencia reciente sugiere que se requiere un **alto nivel de expresión de P16 INK4a** para mantener el crecimiento neoplásico de las células transformadas por el virus del papiloma humano(184).

En condiciones normales, pRb se une al factor de transcripción E2F lo cual produce un efecto de bloqueo de la transcripción de los genes que estimulan la progresión del ciclo celular y su proliferación (Figuras 14 y 15), pero también la codificación del gen P16 INK4a. Así, la detección de la sobre expresión de la proteína P16 indica una inactivación en el control del ciclo celular mediada por las oncoproteínas del VPH-AR (Figura 16).

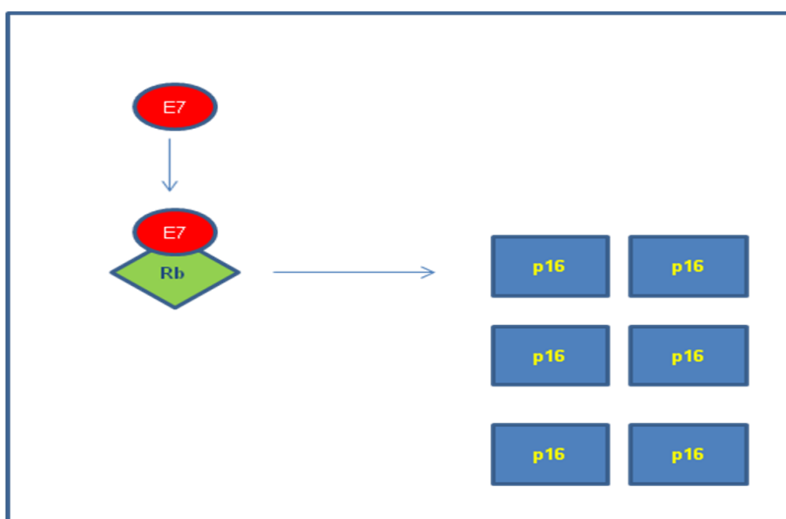


Figura 16. Inactivación de pRb por la oncoproteína E7. Sobreexpresión de P16.
Elaboración propia.

Tanto en el cáncer de cuello uterino, como en sus lesiones precursoras, lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (H-SIL), la pRb está funcionalmente inactivada desde las fases iniciales de la carcinogénesis cervical como consecuencia de la expresión del

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

oncogén E7 de VPH que la bloquea(73;160;172). Se ha demostrado una correlación recíproca entre pRb y la P16 (Figura. 16), razón por la cual hay una sobreexpresión de p16, tanto en los carcinomas como en las lesiones premalignas del cérvix uterino, relacionado con la infección por el VPH(95;160;170;185-187).

2.5.- Determinación molecular de la proteína P16.

En las últimas décadas, la inmunohistoquímica tiene una importancia de peso en el diagnóstico histológico y citológico de las lesiones del epitelio escamoso y glandular del cuello uterino. Sin embargo, la gran proliferación de marcadores y publicaciones, algunas de ellas con resultados discordantes, crea la necesidad de una revisión. Así, en 2011, en la Revista Española de Patología, Francisco Javier Torres Gómez et al.(188), revisaron estas cuestiones. Respecto a las lesiones del epitelio escamoso, las principales limitaciones en su diagnóstico histológico son: a) la variación inter e intraobservador y b) identificar lesiones de bajo grado con potencial de progresión.

Así, entre los diferentes marcadores (Ki 67, Proteína 2 del mantenimiento de microsomas (M2C2), la Topoisomerasa II α (TOP II α), Cdc6 y Mcm5), que en los últimos años han aparecido para mejorar la concordancia diagnóstica histológica en las lesiones escamosas pre invasoras, destaca **P16 INK4a**. Las evidencias existentes sobre la utilidad de la sobreexpresión de P16 INK4a para reducir las discordancias en lesiones pre invasoras e invasoras de cuello uterino son muy numerosas(55;97;189-194) y la constituyen como un marcador objetivo de escasa variabilidad inter observador. Las condiciones que debería tener un buen marcador para ser útil son: a) tener una elevada sensibilidad para CIN II+ y/o CIN III; b) poseer una alta especificidad, y c) ser fácil de evaluar y reproducir. En los distintos trabajos estudiados(195-204) la concordancia histológica diagnóstica es mayor en los extremos del espectro (biopsias negativas, CIN 3 y carcinoma invasor), mientras que disminuye en las lesiones intermedias (CIN I y, especialmente CIN II). En las lesiones CIN II es donde mayor variabilidad inter e intraobservador se presenta.

Podemos poner de manifiesto la sobre expresión de la proteína P16 por medio de la tinción inmunohistoquímica para P16, con la utilización de anticuerpos monoclonales murinos contra P16 INK4a. Esta técnica aporta objetividad y ha demostrado ser capaz de mejorar la especificidad diagnóstica y solucionar los problemas de variabilidad inter/intraobservador(97;205). Este biomarcador es muy específico en las lesiones displásicas, sobre todo en las de alto grado, las

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

cuales son prácticamente positivas todas, mientras que es negativa en la inmensa mayoría de las lesiones reactivas(55;97;189;190;193;206;207).

Por otra parte, la sobreexpresión P16, puede ser un buen candidato para identificar las lesiones L-SIL con potencial de progresión(208), puesto que sabemos que en éstas la prevalencia de tipos virales de VPH-AR es elevada. Así, su información es valiosa a la hora de determinar la conducta clínica en estas pacientes.

En el año 2012, la *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* y el *College of American Pathologists*(31;209;210) propuso las siguientes **recomendaciones para el uso de la técnica inmunohistoquímica P16** en el diagnóstico histológico:

- Diagnóstico diferencial entre lesión precursora de alto grado H-SIL (CIN III) y entidades histológicas simuladoras como la metaplasia escamosa inmadura, atrofia, cambios epiteliales reparativos, corte tangencial, etc.
- Herramienta de decisión en los casos en los que existe desacuerdo entre los diferentes profesionales en la interpretación histológica y el diagnóstico diferencial con lesiones precursoras de alto grado. Por tanto, la determinación de la proteína P16 puede ser utilizada para el entrenamiento de nuevos patólogos con insuficiente experiencia en el diagnóstico de lesiones dudosas, y puede ser considerado como un sustituto de la revisión por un panel de expertos en la evaluación de casos de difícil diagnóstico.
- Diagnóstico diferencial entre L-SIL (CIN I) y H-SIL (CIN II-III). La sobreexpresión difusa de la proteína P16 (positividad), es una evidencia a favor de H-SIL mientras que la negatividad o la positividad focal, indican L-SIL o lesiones no relacionadas con VPH.

La **interpretación de la tinción P16 INK4a** debe ser estricta para valorar la presencia o no de la sobreexpresión de la proteína(188) En la actualidad(31) se considera únicamente como **sobre expresión de P16 INK4a (resultado positivo)** una positividad basal y suprabasal del epitelio escamoso cervical difusa, citoplasmática y nuclear, haya o no tinción de los estratos más superficiales, en un área epitelial, aunque ésta pueda ser muy pequeña. Por otra parte, tanto la negatividad total como la positividad focal y/o parcheada, irregular o en damero para este marcador, o la tinción exclusiva de las capas epiteliales superficiales, se consideran como **ausencia de sobreexpresión (resultado negativo)**. Ésta última forma de positividad es frecuente en lesiones de bajo grado y en algunos epitelios cervicales normales.

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

Podemos **concluir**, por tanto, que la suma de la tinción inmunohistoquímica P16 INK4a a la tinción rutinaria de hematoxilina y eosina aumenta la concordancia inter observador tanto en el diagnóstico de presencia o ausencia de lesión(55;97;189-194) como en la gradación de las lesiones(55;97;189;190;193), considerándose una herramienta de seguridad en el diagnóstico histológico.

Respecto a las **lesiones glandulares** del cuello uterino, el VPH interviene en la etiopatogenia de adenocarcinomas cervicales, aunque no aparece en todos los tipos histológicos. Por tanto, el adenocarcinoma in situ (AIS) se considera una lesión precursora del adenocarcinoma cervical invasor relacionado con la infección por HPV, lo cual demuestra la utilidad de P16 INK4a para realizar el diagnóstico diferencial entre el **AIS** y la **Atipia glandular**, encontrándose peor definida esta última entidad histológica y no permitiéndose su gradación de forma similar a las lesiones escamosas. Por tanto, se ha configurado un panel con P16 INK4a y Ki67, mostrándose positividad intensa y difusa para ambos marcadores en el AIS y débiles y focales en la atipia (211-213). Sin embargo, el estudio inmunohistoquímico de las lesiones glandulares del cuello uterino no aportan elementos pronósticos(188).

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

2.6.- Lesiones pre invasoras del cuello uterino.

Como ya expusimos en el apartado 2.2., en las dos últimas décadas, tras numerosos estudios se ha demostrado que el virus del papiloma humano es el principal agente causal de la carcinogénesis cervical(49).

Las lesiones pre invasoras del cuello de útero han sufrido diferentes clasificaciones a lo largo de la historia (Figuras 17 y 18). Así, de forma cronológica fueron apareciendo las siguientes **nomenclaturas**:

- **Papanicolaou**: CLASE I, II, III, IV y V.
- **Reagan**: Displasia Leve, Moderada, Grave/Severa y Carcinoma in situ.
- **Richart**: Condiloma, CIN I, CIN II y CIN III.
- **Bethesda/LAST**: L-SIL y H-SIL

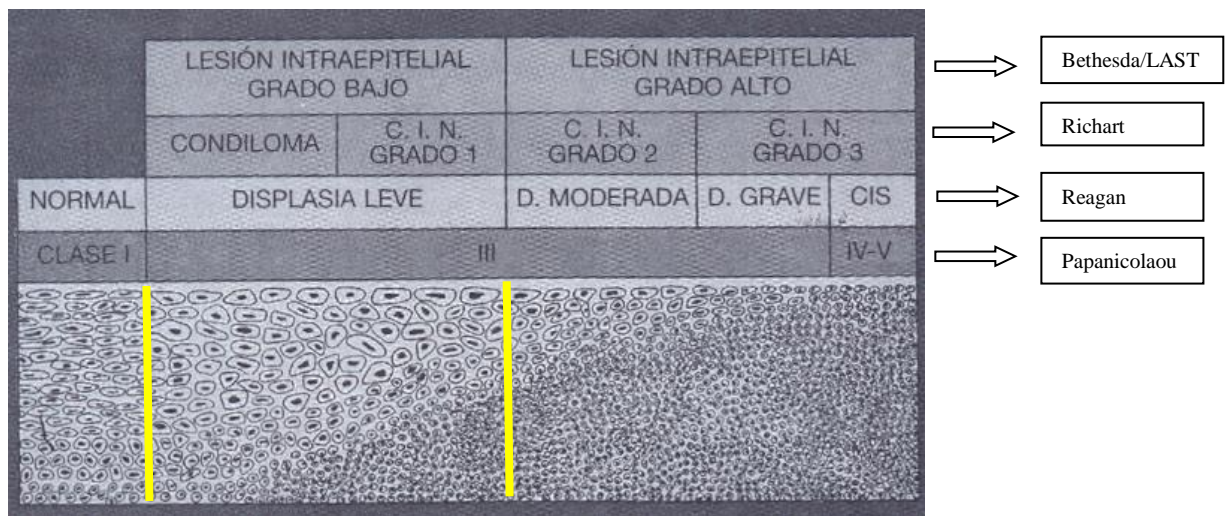


Figura 17. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Papanicolaou, de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST.
Tomado de la Enciclopedia Médico Quirúrgica – E -597-4-10. Página 4.

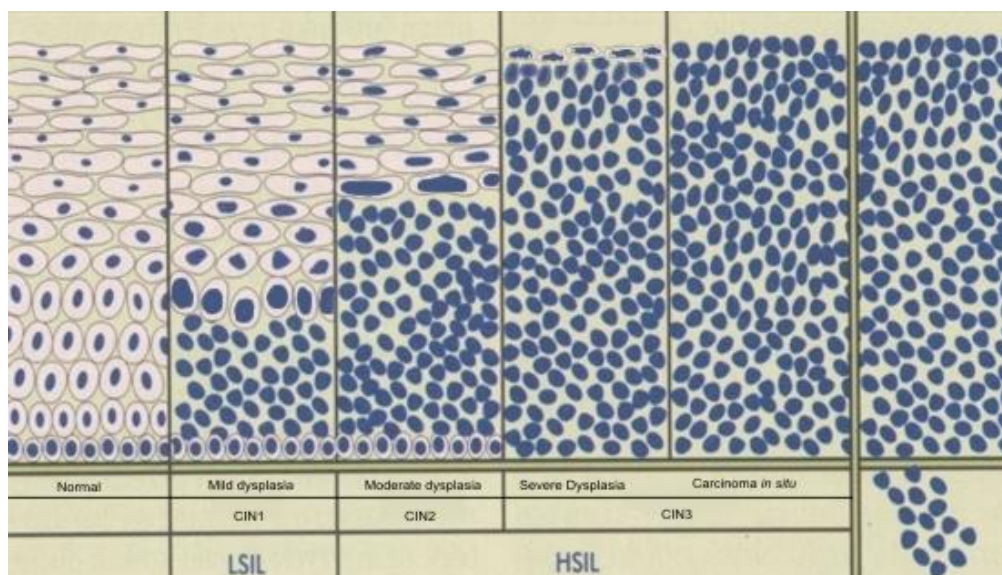


Figura 18. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST. (Eurocytology.eu).

Ante esta diversidad de términos y para formalizar una terminología uniforme, el *College of American Pathologists* (Colegio Americano de Patólogos CAP) y la *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* (Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical, ASCCP) convocaron en marzo de 2012 una conferencia conjunta con 35 organizaciones relacionadas. Consensuaron un sistema de nomenclatura histopatológica denominado **LAST** (*Lower Anogenital Squamous Terminology*)(31) y así poder facilitar la comunicación entre los distintos especialistas implicados.

La **terminología LAST**(31) clasifica las lesiones escamosas intraepiteliales (SIL) asociadas al virus del papiloma humano en dos grados: lesiones de bajo grado (L-SIL) y lesiones de alto grado (H-SIL). La clasificación utiliza la misma terminología que la empleada para los resultados citológicos con el sistema Bethesda 2001. Los criterios histopatológicos que definen estas lesiones son:

- **LSIL**: proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales, incluyendo aumento del tamaño nuclear, membrana nuclear irregular e incremento de la relación núcleo/citoplásmica. Hay poca maduración del citoplasma en el tercio inferior del epitelio, pero la maduración comienza en el tercio medio y es relativamente normal en el tercio superior. Las figuras mitóticas están presentes sólo en la parte inferior del epitelio. Por otra parte, puede observarse la presencia de

INTRODUCCIÓN Y PATOGÉNESIS

coilocitosis, efecto citopático característico de la infección por HPV. Dicha coilocitosis se caracteriza por multinucleación, agrandamiento nuclear y pleomorfismo, acompañado por halos perinucleares, sin las características de una lesión de alto grado.

- **HSIL:** proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales, incluyendo aumento de tamaño nuclear, membrana nuclear irregular e incremento de la relación núcleo/citoplásmica, acompañada de figuras de mitosis. Hay poca o nula diferenciación citoplasmática en los tercios medio y superficial del epitelio. Las figuras mitóticas no se limitan al tercio inferior del epitelio y se pueden encontrar en la parte media y/o superficial.

Una contribución importante de la terminología LAST es que se propone utilizarla en todas las lesiones escamosas intraepiteliales asociadas a la infección por el virus del papiloma humano, independientemente de su localización: cuello uterino, vagina, vulva, ano, región perianal o pene. Dicha terminología permite que la información expresada en los informes se pueda complementar con la terminología clásica: neoplasia intraepitelial (**IN**) y la sigla correspondiente a su localización: cuello uterino (**CIN**), vagina (**VaIN**), vulva (**VIN**), ano (**AIN**), perianal (**PAIN**) y pene (**PeIN**), acompañada de la graduación (-IN I, II o III).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

3.- OBJETIVOS.

3.1.- Hipótesis de trabajo.

La **sobre expresión de la proteína p16** en muestras **histológicas**, obtenidas de biopsias de cuello uterino con resultado L-SIL, es un **indicador de posible riesgo de evolución a lesiones de alto grado** (H-SIL).

3.2.- Objetivo principal.

Nuestro objetivo es demostrar que la determinación, en especímenes histológicos procedentes de mujeres con L-SIL, de la **sobre expresión de la proteína P16** mediante inmunohistoquímica, es un buen **marcador de progresión** de estas lesiones a otras de mayor entidad como H-SIL/Carcinoma.

3.3.- Objetivos secundarios.

- **Evaluar** la evolución de las lesiones cervicales de bajo grado dependiendo de distintas **variables** como la **edad**, **genotipos VPH**, estado de la **citología previa** al inicio del estudio y **número de cuadrantes cervicales afectados**.
- Evaluar la utilidad de la **inclusión de la sobre expresión de esta proteína en programas de seguimiento** de lesiones cervicales intraepiteliales de bajo grado, como posible marcador pronóstico.
- Evaluar la **topografía de la expresión de la proteína P16** en el cervicograma y su evolución a lo largo de 2 años.
- Determinar la **Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo y negativo** de las pruebas diagnósticas: Determinación de **P16** en muestras histológicas, y **Colposcopia**.
- Valorar la utilidad de la sobreexpresión de la **proteína P16**, para **discriminar a las lesiones CIN-II respecto a CIN I y CIN III**.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

4.- MATERIAL-CASOS Y MÉTODO.

4.1.- Diseño del estudio y población.

Hemos realizado un estudio prospectivo con dos brazos. Una cohorte donde tenemos los casos L-SIL P16 positivos (expuestos) y otra con los L-SIL P16 negativos (no expuestos).

4.2.- Definición de Casos.

Reclutamos y clasificamos a las pacientes en función de los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión:

- Biopsias cervicales realizadas bajo visión colposcópica, cuyo resultado histológico más grave, rece **L-SIL**. (Ver Figuras 5, 17 y 18).
- Estas lesiones **L-SIL** serán lesiones **de NOVO**, es decir, ocurren en pacientes que presentan CITOLOGÍA anterior (si se hubieran realizado) de ≥ 1 año, Normal vs ASCUS o que NO presentaron lesiones HISTOLÓGICAS \geq L-SIL en los últimos 5 años.
- Mujeres que en los últimos 5 años no hayan recibido tratamiento por CIN.

- Criterios de exclusión:

- Mujeres gestantes.
- Inmunocomprometidas: VIH, trasplantadas, etc.
- Colposcopias no satisfactorias.
- Conización previa.
- Lesiones L-SIL que se encuentren en seguimiento.
- Displasia H-SIL previa o Carcinoma escamoso y/o glandular de cérvix previo.
- Vacunadas.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

- Criterios de FIN de seguimiento.

- La confirmación histológica de lesiones H-SIL. Estos casos se trataron mediante la realización de conización con asa de diatermia, ajustándonos al protocolo del servicio de ginecología, consensuado y avalado por las sociedades científicas.
- Éxitus o decisión de abandonar el estudio.

4.3.- Detección de los Casos.

Disponemos en nuestro hospital de historias clínicas informatizadas (sistemas informáticos ACTIX/TICARES), con sus correspondientes pruebas complementarias digitalizadas.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del centro H.U. Virgen del Rocío de Sevilla el día 30/11/2011. (Acta 10/11) (Ver Anexos, Apartado 8.6).

Durante el año 2011 realizamos un estudio piloto para conocer el número de casos reclutables durante ese periodo y así poder saber si era factible realizar dicho estudio en nuestro medio. El número de casos estimados resultó ser 64 pacientes recogidos por año.

Se revisaron las agendas de colposcopias realizadas todos los días en el gabinete nº 9 de pruebas especiales de ginecología de nuestro servicio, durante los años 2012 y 2013 (desde el 24 de enero de 2012 al 17 de diciembre de 2013).

Los motivos de derivación de las pacientes para la realización de las colposcopias fueron los recogidos en el Proceso Asistencial Integrado Cáncer de Cérvix (2ª edición, noviembre 2010) http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_3_p_3_procesos_asistenciales_integrados/cancer_cervix/c_cervix.pdf.

Las primeras colposcopias fueron realizadas por los 8 miembros del servicio de ginecología (ginecólogos generales). En nuestro servicio no disponemos de una unidad específica de patología del tracto genital inferior y nuestro centro es un hospital comarcal de

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

3-4 nivel asistencial. (Atención hospitalaria, nivel de atención definido en la [Ley 2/1998, de Salud de Andalucía](#)).

Cuando detectamos un caso L-SIL histológico, que reunía los criterios de inclusión, se recopiló en una base de datos Access 2007 de Microsoft Office. Los casos que reunían los criterios de inclusión estaban cegados para los patólogos y para los ginecólogos que realizaron las biopsias de cérvix dirigidas durante la primera colposcopia.

Posteriormente se citaban a las pacientes, en el plazo de un mes, para informarles de su situación clínica y ofrecerles la posibilidad de participar en este estudio. En caso afirmativo, se les aportó el documento de consentimiento, firmándolo la paciente si voluntariamente deseaba participar en el estudio. (Ver Anexos, Apartado 8.5). Una copia del consentimiento fue entregada a la paciente, otra copia se custodia en el archivo del hospital y una tercera se almacena en una carpeta digitalizada. En la misma visita, tomamos muestra cervical con escobillón de citología líquida para la determinación del genotipado viral VPH mediante PCR (Ver Anexos, Apartado 8.2) y programamos la siguiente visita de control en nuestra agenda de citas del programa informático.

Así, tras la comunicación de los resultados histológicos, unas pacientes pertenecían a la “cohortes de expuestos” (P16 positiva) y otras a la “cohortes de no expuestos” (P16 negativa).

En el año 2012 detectamos 53 casos L-SIL histológicos que reunían los criterios de inclusión. De ellos, 5 casos desestimaron participar en el estudio:

- 2 pacientes no aceptaron participar en el estudio por tener miedo a que se le practicara una biopsia.
- 1 caso se realizó la colposcopia y biopsia cervical de forma privada y no se determinó la proteína P16.
- 2 mujeres no pudieron ser localizadas.

En el año 2013 reclutamos 71 pacientes L-SIL histológicos candidatas a participar en el estudio. Sin embargo, 6 pacientes no pudieron ser incluidas:

- 3 casos no desearon participar por miedo a que se le practicara biopsia.
- 3 casos no pudieron ser localizados.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

Por tanto, el volumen total de pacientes L-SIL histológicos en los 2 años fue de 124 casos. Sin embargo, aceptaron **participar** en el estudio **113 pacientes**.

4.4.- Seguimiento de los casos.

Los datos aportados por la literatura, concernientes a la historia natural de las CIN I, son difíciles de analizar, debido a las disparidades relacionadas con el tipo de estudio, prospectivo o retrospectivo, los criterios de inclusión de los pacientes, la duración del seguimiento, las distintas formas de control y las indicaciones de los tratamientos durante el seguimiento. Los porcentajes de remisión y progresión son, respectivamente del 33 y del 30%, en caso de realizar diagnóstico y control citológico y del 48 y 12%, en caso de diagnóstico y control mediante biopsia dirigida(214). Entre el 26 y el 70% de los L-SIL remiten. Este porcentaje aumenta con la duración del control, pero la mayoría de las remisiones se observan en un periodo de 12 a 18 meses(19;21-23;215). Por el contrario, entre el 4 y el 43% de las CIN I progresan a lesiones de mayor grado.

Por otro lado, las directrices de la **Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical**(216-220) sobre la gestión de mujeres con una colposcopia con resultado menor a CIN II (<CIN II) han sido aceptadas por el **Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos** (ACOG)(29;221-226). Estas directrices 2001-2006 (Revisadas en 2012-13) reconocen que para las mujeres que tienen < CIN II en el diagnóstico patológico/colposcópico en su primera evaluación colposcópica para L-SIL o ASCUS-VPH-positivo, el riesgo sigue siendo elevado para la detección de la enfermedad más grave en los próximos años. El **seguimiento recomendado** consiste en repetir la **citología** a los 6 y 12 meses, o la prueba de **VPH** de alto riesgo en 12 meses(221;222). Cualquier resultado anormal durante el seguimiento requiere colposcopia. Un grupo de 47 expertos, representantes de 23 sociedades profesionales, organizaciones de salud nacionales e internacionales, y agencias federales se reunieron en Bethesda, el 14-15 de septiembre de 2012, para **revisar las Directrices de Consenso de 2006** de la Sociedad Americana de Patología Cervical y Colposcopia(220;227).

También se ha publicado recientemente la Guía 2014 de la **Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)** sobre el cribado del cáncer de cuello de útero en España(228).

Así, ante una **citología L-SIL** recomienda dicha Guía realizar una Colposcopia inmediata (calidad de la evidencia alta; recomendación fuerte a favor). En los casos en los que

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

se ha realizado cotest (Citología líquida y genotipado viral VPH), la conducta dependerá del resultado de la prueba VPH. Por tanto, si la prueba VPH es negativa, se realizará un nuevo cotest al año (calidad de la evidencia baja; recomendación fuerte a favor). Si la prueba VPH es positiva, se realizará colposcopia (calidad de la evidencia alta; recomendación fuerte a favor).

En los casos de **citología L-SIL en menopausia**, cabría realizar dos posibles conductas. Una sería repetir los controles citológicos a los 6 y 12 meses. Si ambos resultasen negativos se remitirían a las pacientes al cribado rutinario (calidad de la evidencia moderada; recomendación fuerte a favor). Si aparece alguna citología con resultado mayor o igual a ASCUS se indicará colposcopia (calidad de la evidencia moderada; grado de recomendación fuerte a favor). La segunda conducta sería realizar con genotipado viral VPH. Si el resultado fuese negativo, se podría indicar un cotest a los 3 años (no evidencia, ni grado de recomendación). Si el resultado del genotipado viral fuese positivo, se indicaría realizar una colposcopia (calidad de la evidencia moderada; recomendación fuerte a favor).

Por otra parte, el manejo de **lesiones histológicas L-SIL/CIN I** depende de la citología previa a la colposcopia biopsia que hace el diagnóstico. Así, una lesión L-SIL/CIN I con el **antecedente de citología previa ASCUS, L-SIL o VPH persistente** se aconseja realizar dos opciones. Bien un cotest a los 12 meses (calidad de la evidencia moderada; recomendación fuerte a favor). Como segunda opción, menos deseable, sería realizar una colposcopia y citología a los 12 meses (calidad de la evidencia moderada; recomendación débil a favor).

Sin embargo, en **lesiones histológicas L-SIL/CIN I, precedidas de citologías H-SIL/ASC-H/AGC**, la opción preferente a realizar sería efectuar un cotest a los 12 y 24 meses (calidad de la evidencia baja; recomendación fuerte a favor). Si ambos cotest fueran negativos se repetirían los cotest a los 3 años (si la paciente es menor de 30 años, sólo se repetiría la citología). Si en algunos de los controles aparecen resultados de citología L-SIL, ASCUS o VPH-AR positivo, se remitiría a la paciente a colposcopia. Si en algunos de los controles persiste la citología H-SIL o ASC-H, indicar tratamiento mediante conización cervical.

En nuestro hospital de tercer nivel, seguimos las directrices recogidas en la segunda edición del **Proceso Asistencial Integrado Cáncer de Cérvix** (2ª edición, noviembre 2010)(229), en el que se especifica el nivel de evidencia y grado de recomendación:

- **Diagnóstico histológico CIN I (Evidencia 1A).**

- La CIN I tiene una alta tasa de regresión espontánea. Es realmente infrecuente que una CIN I progrese a CIN II-III, al menos en los primeros 24 meses. La recomendación en estos

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

casos es realizar citología a los 6 y 12 meses, y asociar una colposcopia en caso de resultado de que esta citología sea ASCUS o mayor (Nivel de evidencia 5, grado de recomendación D) (225).

En casos de colposcopia insatisfactoria, extensión endocervical o lesiones extensas o persistentes, puede plantearse el tratamiento con una técnica escisional (LLETZ).

En casos de CIN I precedido por citología ASCUS, ASC-H, L- SIL, el manejo recomendado de estas pacientes es el seguimiento, ya sea mediante test de HPV cada 12 meses o repetir la citología cada 6 meses. Si el test de VPH es negativo o 2 citología consecutivas resultan negativas se puede volver al cribado habitual (Nivel de evidencia 5, grado de recomendación D)(225).

- Ante la persistencia de CIN I por más de dos años, es aceptable realizar tratamiento (escisión o ablación) (Nivel de evidencia 5, grado de recomendación D)(230), y recomendable en casos de colposcopia insatisfactoria, o si la muestra endocervical presenta una CIN, a excepción de pacientes gestantes.

Por tanto, hemos realizado un seguimiento de las pacientes durante 2 años, de la siguiente forma:

- Control 0 meses (consultas externas):
 - VPH (genotipado).
 - Consentimiento informado.
 - Inclusión en la base de datos con nombre “prospectivo P16”.
 - Gestionar próxima cita en consultas externas dentro de 6 meses.
 - Previamente se ha realizado Colposcopia, Biopsia de cérvix, determinación de P16 y citología líquida.
- Control 6 meses (consultas externas):
 - Citología líquida.
 - Gestionar próxima cita en el gabinete nº 9 de ginecología dentro de 6 meses.
- Control 12 meses (gabinete nº 9):
 - Citología líquida, VPH (genotipado), Colposcopia, Biopsia cérvix y P16.
 - Gestionar próxima cita en consultas externas dentro de 6 meses.
- Control 18 meses (consultas externas):
 - Citología líquida.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

- Gestionar próxima cita en el gabinete n° 9 de ginecología dentro de 6 meses.
- Control 24 meses (gabinete n° 9):
 - Citología líquida, VPH (genotipado), Colposcopia, Biopsia cérvix y P16.
 - Citar a las pacientes en consultas externas, al finalizar el estudio, para comunicar los resultados relevantes.

Se procedió a realizar un cepillado endocervical ante una discordancia cito/histológica (Citología ASC-H/H-SIL, Histología normal), con colposcopia y vaginoscopia normales. A dos pacientes se les practicó una conización con asa de diatermia, por discordancia cito/histológica (una paciente a los 2 años de seguimiento y otra a los 3 años). También se realizó una conización a los 6 meses, por discordancia cito/colposcópica.

A los 2 años de realizado el diagnóstico hemos podido verificar cuantos L-SIL histológicos iniciales han progresado a lesiones H-SIL.

Hemos comprobado qué muestras iniciales que sobre expresan p16 tienen mayor probabilidad de desarrollar una lesión de alto grado (H-SIL).

4.5.- Definición de resultados.

A los 24 meses de seguimiento analizamos el estado de situación de las pacientes que habían participado en el estudio. Así, clasificamos 3 grupos:

- ✓ Curación: entenderemos como **caso “curación”** cuando se cumplan los siguientes criterios (todos simultáneamente), a los 24 meses de evolución:
 - Citología en la que rece: no displasia, no atipias.
 - Histología: no displasia.
 - Colposcopia: satisfactoria y normal.
 - HPV-AR ausente.
- ✓ Persistencia: definimos como **caso “persistencia”** si presenta uno de los siguientes criterios a los 24 meses de evolución:
 - Citología con resultado:
 - atipias celulares (ASCUS).
 - displasia leve (L-SIL).

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

- Histología con presencia de L-SIL.
 - Colposcopia con cambios menores o mayores.
 - VPH-AR presente.
- ✓ Progresión: diagnosticaremos, en cualquier momento del seguimiento, aquellos **casos** que han “**progresado**”, si cumplen:
- Histología cuyo resultado exprese H-SIL o Carcinoma cervical escamoso y/o glandular.

Los resultados obtenidos del laboratorio se registraron en una base de datos access 97, tablas Excel y analizados con el programa estadístico SPSS-19.0 para Windows.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

4.6.- Procedimientos.

En este apartado describiremos los cuatro procedimientos técnicos realizados en nuestro estudio: **Citología, Colposcopia, Procesamiento Histológico y determinación inmunohistoquímica de la Proteína P16 y el Genotipado viral.**

Todos estos procedimientos están desarrollados más ampliamente en los Anexos que se indican.

4.6.1.- Citología.

(Ver anexo 8.1).

El medio utilizado en nuestro centro es: **CITOLOGÍA LÍQUIDA** (Imagen 12) Shandon PapSpin. (Thermo Scientific). (www.thermofisher.com), solución **PreservCyt** (Hologic Corp, Marlborough, MA, EE.UU.) para **ThinPrep citología de base líquida** y la prueba de VPH de alto riesgo.

En nuestro servicio hemos realizado un diseño de las funciones de cada profesional sanitario que interviene en este proceso (Arquitectura 4) y un Plan de Seguridad.

Como programa interno de calidad aplicamos un **doble cribado** en el 10 % de las citologías negativas. Este doble cribado es llevado a cabo por los patólogos de nuestra unidad, filtrando el 10 % de las lecturas de citologías negativas realizadas por los 3 cito técnicos del servicio de anatomía patológica de nuestro hospital.

Los diagnósticos citológicos se basaron en la clasificación del Sistema de Bethesda 2001(60).

4.6.2.- Colposcopia.

(Ver anexo 8.4).

La colposcopia, utilizada para la evaluación de pacientes con citología patológica, ha demostrado su importancia como técnica diagnóstica en la prevención secundaria del cáncer de cuello uterino (CCU).

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

El colposcopio es un instrumento óptico que, mediante una preparación adecuada con ácido acético al 3 %, magnifica las imágenes del cuello uterino, pudiendo identificar, localizar y biopsiar aquellas zonas del epitelio cervical con características colposcópicas anormales.

La colposcopia nos informa del patrón histológico del epitelio, clasificando las imágenes según presenten alteraciones mínimas (cambios menores o grado 1), graves (cambios mayores o grado 2) o muy graves (sugestivas de carcinoma) de acuerdo con las características definidas en la clasificación internacional de la *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC)(231).

El colposcopio disponible en nuestro servicio es el modelo Olympus OCS 500. (Colposcopio OCS-500, WD220 – 350 mm, zoom de 6x – 20x, fuente de luz halógena de 150 W, filtro verde. /www.olympuslatinoamerica.com/spanish) (Imagen 30. B, C, D y E).

El investigador principal (IP) obtuvo la Acreditación en Colposcopia en los años 2010 y 2011, otorgada por la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.

Es de suma importancia, la captura y almacenamiento de las imágenes para llevar a cabo un correcto seguimiento de los casos clínicos(232). En nuestro medio hacemos uso de un programa informático de captura de imágenes llamado Endobase.

Las colposcopias se realizaron siguiendo los Indicadores de Calidad en Colposcopia de la European Federation for Colposcopy(233-235).

Las colposcopias en el momento 0 mes fueron realizadas por los 8 miembros del servicio de forma cegada. Las colposcopias de seguimiento las practicó el investigador principal.

4.6.3.- Procesamiento Histológico y determinación Inmunohistoquímica de la proteína P16.

(Ver anexo 8.3).

El estudio Histológico e Inmunohistoquímico se llevó a cabo en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe. Dicho servicio está

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

compuesto por 4 patólogos. Dos han sido fijos a lo largo del estudio y 2 han variado. Además dispone de 3 citotécnicos y 3 auxiliares de laboratorio.

Hemos determinado la sobreexpresión de la proteína P16 en muestras de biopsias, guiadas por colposcopia, de las lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (L-SIL).

La tinción de P16 se realizó con un **anticuerpo monoclonal murino (clon E6H4)**, contra la proteína P16 INK4a, mediante el sistema automatizado Leica Bond Max de Menarini diagnostics (CINTEC® Histology V-Kit).

CINTEC® Histology V-Kit es un ensayo inmunohistoquímico para determinar cualitativamente el antígeno P16 INK4a en cortes de tejidos procedentes de biopsias de cuello uterino fijadas con formol e incluidas en parafina para uso en equipos de tinción automatizada de portaobjetos de la serie Ventana BenchMark®. Se pueden utilizar conjuntamente con portaobjetos teñidos con hematoxilina-eosina preparados a partir de la misma muestra de tejido cervical, para así incrementar la sensibilidad diagnóstica y la concordancia inter observador en el diagnóstico de la patología cervical.

Verificamos qué muestras histológicas **sobre expresan la proteína P16**. Observamos la **tinción** para P16 en el citoplasma y en los núcleos celulares y clasificamos los resultados en tres subgrupos:

- Subgrupo **A: negativo**. Negatividad absoluta de tinción o con tinción de < 5% de las células del tercio inferior del epitelio cervical displásico(208).
- Subgrupo **B: P16 positiva focal**. Tinción $\geq 5\%$ $< =$ al 25% de las células epiteliales(208). Serían recogidos aquellos casos con tinción focal y/o parcheada, irregular, o con tinción exclusivas de las capas epiteliales superficiales. Este modelo de tinción es frecuente en lesiones pre invasoras cervicales de bajo grado y en algunos epitelios cervicales normales.
- Subgrupo **C: P16 positiva difusa**. Tinción $>$ al 25% de las células epiteliales(95;208). En este subgrupo consideraríamos que existe tinción de las **capas basal y parabasal** del epitelio escamoso cervical, citoplasmática y nuclear, haya o no tinción de los estratos más superficiales. Por tanto, catalogamos estas pacientes como casos con **sobre expresión de P16 INK4a**.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

A efectos prácticos, los **subgrupos A y B** se consideran **negativos, P16 (-)**.

Sólo el **subgrupo C** es **positivo, P16 (+)**.

Si en una paciente coexistían zonas cervicales P16 (+) con otras P16 (-), el caso fue catalogado como P16 (+).

Parece ser que los hallazgos de la sobre expresión de la proteína P16 en las células proliferantes (basales y para basales) de CIN I se han vinculado con un mayor riesgo de progresión(179;208).

4.6.4.- Genotipado viral.

(Ver anexo 8.2).

El genotipado viral se realizó en el Servicio de Microbiología del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, compuesto por 3 microbiólogos y 2 técnicos especializados en la técnica de PCR.

La FDA (*Food and Drug Administration*) ha aprobado las siguientes pruebas para la detección del virus del papiloma humano en cribado poblacional:

- Métodos en los que no se realiza amplificación de ADN:
 - **Captura de Híbridos II (HC II)**: HPV DNA Test (QIAGEN Inc., Gaithersburg, Maryland; Estados Unidos) US FDA (2003).
 - **Cevista HPV HR Test** (Hologic, Madison, Wisconsin, Estados Unidos) US FDA (2009).
- Métodos en los que se realiza amplificación del ADN viral, mediante la reacción en cadena de ala polimerasa (**PCR**):
 - **Cobas 4800 HPV Test** (Roche Molecular Systems Inc., Alameda, California, Estados Unidos) US FDA (2011).
 - **APTIMA HPV Test** (Gen – Probe Inc., San Diego, California, Estados Unidos) US FDA (2011).

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

La HC2 utiliza extractos crudos de VPH y está ajustada con un umbral de positividad de 1 picogramo (pg) por mililitro (ml) equivalente a unas 100.000 copias de virus.

Por el contrario las pruebas de PCR utilizan extractos purificados de DNA viral y detectan unas 10 copias de virus por ml.

Existe dos tipos de PCR: PCR consenso y PCR específica(236):

- **PCR consenso.** Es la más utilizada, en la cual se amplifica una región de ADN con secuencia muy similar entre todos los VPH, para realizar posteriormente genotipado específico del virus. El método más común es el que utiliza la región L1, mediante primers MY09 y MY11. Los fragmentos de ADN generados son de aproximadamente 450 pares de bases. Posteriormente se sintetizaron nuevos primers como PGMY09/11, GP5/GP6 y sus variantes mejoradas GP5+/GP6+, con un relativo aumento de sensibilidad y especificidad de detección viral(237;238).
- **PCR específica.** La PCR específica está basada en el diseño de primers específicos para tipos, subtipos o variantes virales, pudiendo afinar la sensibilidad de la prueba a sensibilidades de femtogramo, con especificidades que rondan el 100%. Por otra parte, permite la realización de análisis de integración viral, detección de variantes, cuantificación frente a genes constitucionales, etc. (carga viral relativa al número de células).

Nuestro grupo de trabajo perteneciente al Servicio de Microbiología del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe optó por Pruebas de PCR consenso. Así, el Genotipado viral lo realizamos mediante la amplificación del ADN viral. Este método se basa en la aplicación de unos cebadores consenso (primers en inglés) complementarios de secuencias de ADN vírico, en ciclos de baja y alta temperatura, mediante la acción de la enzima polimerasa de ADN. Por tanto obtenemos un gran número de copias de un fragmento de ADN específico, partiendo de una fracción pequeña.

Estas técnicas pueden utilizarse en cualquier tipo de muestras, como células en suspensión, células sobre portaobjetos o muestras histológicas.

MATERIAL – CASOS Y MÉTODO

Estos procedimientos diagnósticos son muy sensibles, pero pueden tener problemas con la especificidad, ya que pueden detectar secuencias similares pero no exactas de ADN problema (falsos positivos). El límite de detección de la técnica es muy amplio y se mueve en rangos de 120 copias/ml para el tipo 16 y de 300.000 copias/ml para el tipo 64. Para la mayoría de los genotipos, está en torno a las 900 copias/ml. Es, además, una técnica capaz de detectar coinfecciones.

El genotipado en nuestro hospital lo realizamos con el método **HPV LINEAR ARRAY Genotyping Test**, que es una prueba **semiautomática** (parte se realiza de forma manual y parte de forma automática), **cualitativa** in vitro para la detección del virus del papiloma humano en la práctica clínica.

La prueba utiliza la amplificación del ADN diana mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación posterior del ácido nucleico obtenido, con sondas específicas fijadas sobre una tira de nitrocelulosa que tiene una lectura colorimétrica.

Detecta **treinta y siete** genotipos de ADN del **VPH** anogenital: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 89, IS39 y CP6108 en células cervicales obtenidas por cepillado del mismo y conservadas mediante el medio PreservCyt.

4.7.- Análisis estadístico.

En un primer momento nos planteamos un **error Tipo 1** Probabilidad (p) = α del 0,05 (nivel de significación) y un **error Tipo 2** (Probabilidad = $1 - \beta$) del 0,20-0,05. (Potencia del 90%).

El **riesgo α** también se llama **nivel de significación** y establece el criterio de rechazar la Hipótesis nula **H₀** cada vez que se encuentre un valor de **p** inferior al 5 % (**$p < 0,05$**).

La característica que influye más decisivamente en el cálculo de los valores de **p** (probabilidad) es el tamaño de la muestra. Un tamaño muestral inadecuado es generalmente causa de una baja potencia para detectar efectos clínicamente relevantes.

Un valor de **p inferior a 0,05** fue considerado **estadísticamente significativo**.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software SPSS (versión 19.0).

Los resultados se presentan como números y porcentajes absolutos.

Se aplicó el **Test de Ji Cuadrado de Pearson χ^2** , para realizar las comparaciones entre las variables categóricas o cualitativas y para comparar proporciones o porcentajes. Es una prueba estadística de contraste de hipótesis que se aplica para analizar variables cualitativas o categóricas y comparar proporciones o porcentajes. (Comparamos porcentaje de expuestos = sobre expresan P16 y no expuestos). Establecemos un nivel de significación para una $p < 0,05$.

Construimos **modelos univariados de Cox** tomando la estimación del riesgo como la **razón de riesgo (HR)** y sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%) para **analizar los factores pronósticos positivamente asociados con la progresión a H-SIL / CIN II-III**.

También diseñamos **modelos de regresión multivariantes de Cox**, que se aplican para ajustar las comparaciones de grupo a posibles factores de confusión y evaluar los efectos de interacción con respecto al riesgo de progresión.

Estos modelos incluyen como **variable Dependiente** o **variable Y**, a la enfermedad pre invasora **H-SIL**.

Como **variables Independientes** o **variables X** o **Predictoras** o **Factores de Confusión**, se tomaron la **edad**, la **paridad**, los **Métodos anticonceptivos**, el **genotipado viral** al inicio del estudio (mediante técnica de PCR), el **número de cuadrantes afectados** al inicio del estudio, **diagnóstico colposcópico** en el momento 0 mes, el resultado de la **prueba de Papanicolaou** en la visita inicial y la **inmunotinción de P16** al inicio del estudio.

Para la realización de este análisis estadístico hemos contado con la colaboración de Dña. **Ana Fernández Palacín**, profesora titular de la Universidad de Sevilla en el Área de Conocimiento: Medicina Preventiva y Salud pública y de D. **Juan Manuel Praena Fernández**, miembro de la Unidad de Estadística, Metodología y Evaluación de la Investigación – Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Salud de Sevilla. Ambos realizaron sus análisis de forma independiente, desconociendo cada cual los resultados del otro investigador.

RESULTADOS

RESULTADOS

5.- RESULTADOS.

En nuestro estudio hemos podido observar qué porcentaje de lesiones histológicas L-SIL con P16 positiva desarrollan un H-SIL a lo largo del tiempo, siendo esta última patología precursora del cáncer de cuello de útero(38;239). Así, podríamos filtrar las lesiones escamosas de bajo grado, morfológicamente similares al microscopio bajo tinción de Hematoxilina/Eosina, pero biológicamente diferentes(179).

Los resultados los hemos divididos en dos bloques: en el primero realizamos un Estudio Descriptivo y en el segundo un Estudio Analítico.

5.1. Estudio DESCRIPTIVO.

5.1.1- POBLACIÓN.

Como se expuso en el apartado 4.3, 124 pacientes reunían los criterios de inclusión para participar en el estudio. En el año 2012 se reclutaron 53 pacientes, de las cuales 5 decidieron no entrar en el estudio. En el año 2013 fueron invitadas a participar en el estudio 71 mujeres, no deseando participar 6. (Figura 19). En definitiva, 113 pacientes fueron incluidas en el estudio.

RESULTADOS

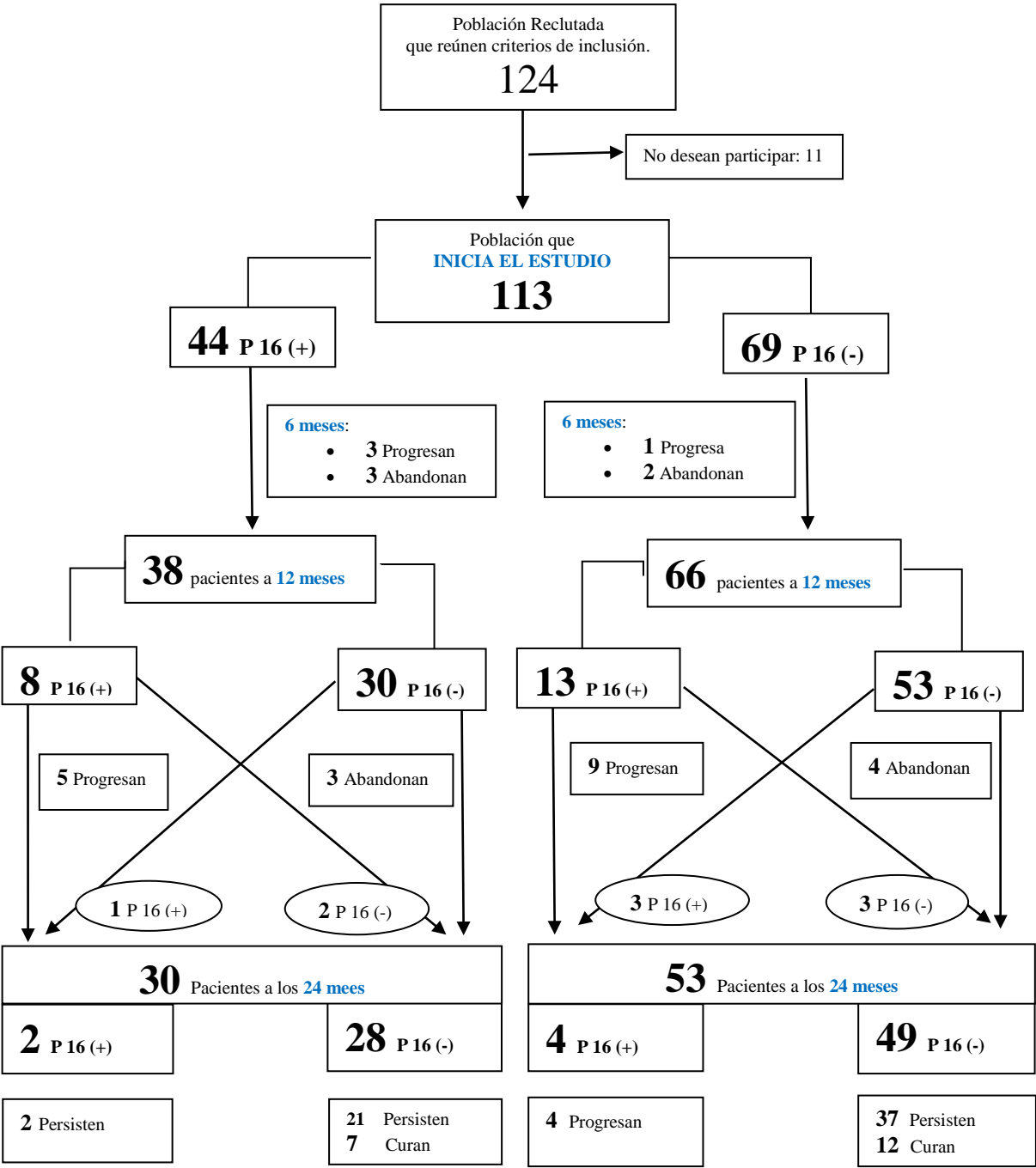


Figura 19. Seguimiento de la muestra reclutada.
Elaboración propia.

Recordemos que las 113 pacientes eran portadoras de una lesión intraepitelial de bajo grado (L-SIL), diagnosticada histológicamente. De ellas, 44 (**38,93%**) presentaban sobre expresión de la proteína P16 (**P16 (+)**) en la biopsia realizada al inicio y 69 (**61,06%**) no sobre expresaban la proteína P16 (**P16 (-)**) en la biopsia de la lesión L-SIL.

RESULTADOS

- En el **Grupo P16 (+) del momento 0** (44 pacientes) (Figura 19), a los 6 meses de seguimiento, 3 mujeres (6,81%) progresaron a lesión de alto grado H-SIL y 3 abandonaron el estudio.

Por consiguiente, a los 12 meses permanecían en el seguimiento 38 pacientes. De ellas, 8 mujeres (18,18%) continuaban presentando sobre expresión de la proteína P16 y 30 habían negativizado la expresión de la proteína P16 (68,18%).

De las 8 pacientes P16 (+), progresaron 5 y negativizaron la expresión de P16 a los 24 meses 2 pacientes.

De las 30 mujeres P16 (-), no progresó ninguna y abandonaron el estudio 3, sobre expresando la proteína P16 a los 24 meses 1 paciente.

A los 24 meses, llegaron 30 pacientes en este brazo del estudio. De ellas, 2 mujeres (4,54%) continuaban sobre expresando la proteína P16 y 28 la **habían negativizado (63,63%)**.

Las 2 pacientes que sobre expresan la proteína P16, continúan en seguimiento, por ser catalogadas por lesión persistente.

De las 28 mujeres que habían negativizado la expresión de P16, 21 fueron catalogadas de lesión persistente (permanecen en seguimiento) y 7 (16%) **habían curado**, regresando al cribado poblacional.

En definitiva, en este **grupo P16 (+)**, a los 24 meses de seguimiento:

8 pacientes progresaron (18%), 7 curaron (16%), 23 persisten (52,27%) y 6 abandonaron el estudio (13,63%).

- En el **Grupo P16 (-) del momento 0** (69 pacientes) (Figura 19), a los 10 meses de seguimiento 1 mujer (1,44%) progresó a lesión intraepitelial de alto grado (H-SIL) y 2 abandonaron el seguimiento del estudio.

Así, a los 12 meses continuaban en el estudio 66 pacientes. De ellas, 53 (80,30%) continuaban no expresando la proteína P16 y 13 (18,84%) pasaron a sobre expresar la proteína P16.

De las 53 mujeres que mantenían P16 (-) a los 12 meses, 4 abandonaron el estudio y 3 sobre expresaron la proteína P16 a los 24 meses.

De las 13 pacientes que expresaban P16 en el momento 12 meses, 9 (69,23%) progresaron a lesión intraepitelial de alto grado y 3 negativizaron su expresión a los 24 meses.

RESULTADOS

Por tanto, a los 24 meses, 53 pacientes de esta cohorte fueron valoradas. De ellas, 4 pacientes sobre expresaban la proteína P16, progresando estas 4, y mantenían la negatividad en la expresión P16, 49 mujeres. De este último grupo P16 (-), 37 pacientes persisten con los controles de seguimiento y 12 han curado.

En conclusión, en este **grupo P16 (-)**, a los 24 meses de seguimiento:

14 pacientes progresaron (20,28%), 12 curaron (17,39%), 37 persisten (53,62%) y 6 abandonaron (8,69%) el estudio.

Todo ello queda recogido en la **tabla general** número 6.

Centrándonos en el contenido de esta tabla podemos analizar distintos apartados:

- **Edad:**

La media de edad de la población global es de 34,13 años, con un rango de 17-64 años y una mediana de 33 años.

En el **grupo P16 (+)**, la media de edad es de 34,18 años y en **grupo P16 (-)** 34,08 años. Aplicamos la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) a los grupos de “edad” de la población P16 (+) y P16 (-) resultando una “p” de 0,991. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Subdividimos la población en 3 subgrupos de edad (Tabla 5):

- **Menos de 25 años:** compuesto por 19 pacientes. Dos de ellas progresaron (1,76%, del total de 113) y 2 pacientes abandonaron el estudio (1,76%).

En el momento 0 mes, de las 19 pacientes de este subgrupo, 9 pacientes sobre expresaban la proteína P16 y 10 no.

A los 12 meses de seguimiento, continuaban el estudio 15 pacientes. De ellas, 3 sobre expresaban la proteína P16 y 12 no.

A los 24 meses, teníamos en este subgrupo de edad a 15 pacientes, no sobre expresando ninguna de ellas la proteína P16.

- **Entre 25 y 30 años:** integrado por 26 casos. Cuatro pacientes progresaron (3,53%) y 1 mujer abandonó (0,88%).

Así, al inicio, de estas 26 pacientes, 8 sobre expresaban la proteína P16 y 18 no.

A los 12 meses de seguimiento, registramos a 20 pacientes, 5 sobre expresaban la proteína P16 y 15 no.

RESULTADOS

A los 24 meses, seguimos a 22 pacientes, una mujer sobre expresaba la proteína P16 y 21 no.

- Más de 30 años: formado por 68 paciente, de las cuales progresaron 17 mujeres (15,04%) y abandonaron 9 (7,96%).

En el momento 0 mes, de las 68 pacientes del grupo de pacientes mayores de 30 años, 27 sobre expresaban la proteína P16 y 41 no.

A los 12 meses, registramos 69 pacientes, de las cuales 13 sobre expresaban la proteína P16 y 56 no.

A los 24 meses, seguimos a 45 pacientes, 5 sobre expresaban a la proteína P16 y 41 no.

Grupos de edad	0 mes (113 pacientes)		12 meses (104 pacientes)		24 meses (83 pacientes)	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
< 25 años	9	10	3	12	0	15
25 – 30 años	8	18	5	15	1	21
> 30 años	27	41	13	56	5	41
Total (n/ %)	44 (38,93)	69 (61,06)	21 (20,19)	83 (79,80)	6 (7,22)	77 (92,77)

Tabla 5. Sobre expresión de la Proteína P16 en los 3 subgrupos de edad, a lo largo de 0, 12 y 24 meses de seguimiento.

- Paridad:

En el grupo completo (Tabla 6), 53 pacientes eran nulíparas (46,9%), 53 primíparas (46,9%) y 7 multíparas (6,2%).

En el **grupo P16 (+)**, 18 pacientes eran nulíparas (41%), 22 primíparas (50%) y 4 multíparas (9%).

En el **grupo P16 (-)**, 35 mujeres eran nulíparas (50,7%), 31 primíparas (45%) y 3 multíparas (4,3%).

Comparamos, mediante la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) en los subgrupos de “paridad”, la población P16 (+) y P16 (-), resultando una “p” de 0,5. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

RESULTADOS

- **Hábito tabáquico:**

Globalmente (Tabla 6) 56 paciente no eran fumadoras (49,5%), 34 fumaban menos de 10 cigarrillos al día (30,1%), 20 fumaban entre 10 y 20 cigarros al día (17,7%) y 3 mujeres fumaban más de 20 cigarros al día (2,65%).

En el **grupo P16 (+)**, 19 pacientes no eran fumadoras (43,18%), 15 fumaban menos de 10 cigarrillos al día (34,1%) y 10 fumaban entre 10 y 20 cigarros al día (22,72%).

En el **grupo P16 (-)**, 37 pacientes no eran fumadoras (53,62%), 19 fumaban menos de 10 cigarros al día (27,53%), 10 mujeres fumaban entre 10 y 20 cigarros al día (14,49%) y 3 pacientes fumaban más de 20 cigarros al día (4,34%).

Calculamos la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) en los subgrupos de “fumadoras” en la población P16 (+) y P16 (-) resultando una “p” de 0,271. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

- **Método anticonceptivo:**

El método anticonceptivo más frecuentemente utilizado en el grupo de estudio (Tabla 6) fue el método barrera, con 66 pacientes (58,4%). El DIU (DIU clásico y DIU –LNG) lo utilizaron 5 pacientes (4,42%), el método anticonceptivo hormonal (píldora, transdérmico o anillo vaginal) 16 mujeres (14,15%) y otros métodos (ligadura tubárica, coito interruptus, vasectomía, essure, métodos naturales o ninguno) 26 mujeres (23%).

En el **grupo P16 (+)**, 25 pacientes utilizaron método anticonceptivo barrera (56,81%), 3 DIU (6,81%), 5 método hormonal (11,36%) y 11 mujeres utilizaron otros métodos (25%).

En el **grupo P16 (-)**, también el método anticonceptivo más frecuentemente utilizado fue el método barrera, con 41 pacientes (59,42%), 2 utilizaron DIU (2,9%), 11 método hormonal (16%) y 15 mujeres utilizaron otros métodos (2,17%).

Calculamos la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) en los subgrupos de “anticoncepción” de la población P16 (+) y P16 (-) resultando una “p” de 0,686. Por lo tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

- **Constancia previa de lesión cervical:**

Analizando las 113 pacientes que se incluyeron en el estudio (Tabla 6) resulta:

En 75 pacientes de la población estudiada (**66,37%**), **teníamos constancia** mediante citologías y/o biopsias cervicales, de que estas pacientes no habían presentado lesión

RESULTADOS

cervical intraepitelial alguna previamente al inicio del estudio. (Ver criterios de inclusión). En este subgrupo progresaron 15 pacientes.

En 38 pacientes (**33,62%**), **no** teníamos ningún dato que garantizara que estas mujeres no portaran la lesión cervical previamente. En la mayoría de estas pacientes no se habían realizado un cribado citológico óptimo. En este subgrupo progresaron 7 pacientes.

En el **grupo P16 (+)**, en 27 pacientes (61,6%) si teníamos constancia de ausencia de patología cervical previa y en 17 mujeres (38,63%), no teníamos este dato.

En el **grupo P16 (-)**, en 48 pacientes (69,56%), sí teníamos constancia de dicha indemnidad patológica y en 21 mujeres (30,43%) no la teníamos.

- **Citología presentada previamente al inicio del estudio:**

En este apartado recogimos las citologías que presentaban las pacientes antes de comenzar el estudio (Tabla 6), motivo por el que fueron remitidas para la realización de colposcopia. Así, portaron citologías con diagnóstico de **lesión intraepitelial de bajo grado** (L-SIL o ASCUS) 90 pacientes (**79,64%**) del total de mujeres estudiadas. Por otro lado, 23 pacientes (20,35%) tenían citologías con lesiones intraepiteliales de alto grado (H-SIL o ASC-H o AGC).

En el **grupo P16 (+)**, 36 pacientes presentaban una citología de bajo grado (81,81%) y 8 de alto grado (18,18%).

En el **grupo P16 (-)**, 54 pacientes tenían una citología de bajo grado (78,26%) y 15 de alto grado (21,73%).

Aplicamos la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) a los subgrupos de “Citología previa al 0 mes”, de la población P16 (+) y P16 (-), resultando una “p” de 0,210. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

- **Presencia del Virus del Papiloma Humano:**

En la muestra inicial de estudio (Tabla 6), 14 pacientes no portaban virus del papiloma humano (12,38%); 18 pacientes presentaban virus de alto riesgo y bajo riesgo conjuntamente (15,93%); 1 era portadora de una infección por los virus de alto riesgo 16 y 18 junto a virus de bajo riesgo (0,88%); 33 mujeres presentaban virus de alto riesgo, distintos del 16/18 (29,20%); 12 pacientes eran portadoras de virus de alto riesgo genotipo 16 (10,62%); 9 portaban virus de alto riesgo 16 junto a virus de bajo riesgo (7,96%); una paciente fue portadora de virus de alto riesgo 16 y 18 conjuntamente

RESULTADOS

(0,88%); dos pacientes presentaban virus de alto riesgo genotipo 18 (1,76%); una paciente portaba virus de alto riesgo número 18 y virus de bajo riesgo (0,88%); por último, 22 pacientes presentaban virus de bajo riesgo (19,47%).

Así, el **22,98%** de las pacientes estaban infectadas por los genotipos de alto riesgo 16 y 18.

En el **68,11%** de las lesiones L-SIL (momento 0 mes del estudio), diagnosticadas por histología, identificamos **virus del papiloma humano de alto riesgo**, bien en forma de infección simple o múltiple.

Las infecciones por virus de bajo riesgo las hallamos en el 19,47% de las lesiones L-SIL.

En el **grupo P16 (+)**, en 4 pacientes no se identificó presencia viral (9,1%); en 9 pacientes se detectó virus de AR y BR conjuntamente (20,45%); en 15 se detectaron genotipos de alto riesgo, distintos a los genotipos 16/18 (34,1%); en 6 pacientes se identificó virus de alto riesgo número 16 (13,64%); en 4 mujeres, los virus de alto riesgo número 16 se presentaron conjuntamente con virus de bajo riesgo (9,1%); en 6 pacientes sólo se detectaron virus de bajo riesgo (13,64%). Cabría destacar que no se detectaron genotipos virales número 18 en ninguna de las combinaciones posibles (AR 18; AR 16/18; AR 18 y BR; AR 16/18 + BR).

En el **grupo P16 (-)**, en 10 pacientes no se identificó virus del papiloma humano (14,5%); en 9 pacientes presentaban virus de alto riesgo y bajo riesgo de forma conjunta (13,4%); una paciente tenía virus de alto riesgo 16 /18 y virus de bajo riesgo simultáneamente (1,45%); 18 pacientes presentaban virus de alto riesgo, distintos de los genotipos 16 y 18 (26,08%); en 6 pacientes genotipamos virus de alto riesgo número 16 (8,69%); en 5 pacientes detectamos virus de alto riesgo número 16 y bajo riesgo de forma concomitante (7,25%); una paciente tenía virus de alto riesgo genotipos 16 y 18 (1,45%); 2 pacientes presentaron virus de alto riesgo número 18 (2,89%); una paciente portaba virus de alto riesgo número 18 y virus de bajo riesgo (1,45%); por último, en 16 pacientes se detectó virus de bajo riesgo (23,18%).

- **Impresión colposcópica:**

Las pacientes que fueron remitidas para la realización de una colposcopia por presentar alteraciones citológica que requerían dicha prueba, presentaron los siguientes hallazgos colposcópicos (Tabla 6). En el conjunto global de las pacientes, 2 mujeres tenían una

RESULTADOS

colposcopia normal (1,76%), 80 pacientes fueron diagnosticadas de cambios menores (70,79%) y 31 de cambios mayores (27,43%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes ofrecían una colposcopia normal (4,54%), 31 cambios menores (70,45%) y 11 cambios mayores (25%):

En el **grupo P16 (-)**, 49 fueron diagnosticadas de cambios menores (71,01%) y 20 mujeres de cambios mayores (28,98%).

Comparamos mediante la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) los subgrupos de población P16 (+) y P16 (-), resultando una “p” de 0,225. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

- **Número de cuadrantes del cuello uterino afectados:**

Globalmente (Tabla 6), 2 pacientes no presentaban cuadrantes afectados (1,76%), es decir, eran colposcopias normales. Un 42,47%, es decir, 48 pacientes en cada grupo, tenían 1 o 2 cuadrantes afectados. Unas 7 mujeres presentaban 3 cuadrantes afectados (6,20%) y 8 pacientes, cuatro cuadrantes afectados (7,08%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes no presentaban cuadrantes afectados (4,54%), por tanto, las colposcopias fueron normales. En 16 pacientes tenían un cuadrante afecto (36,36%), 19 pacientes tenían 2 cuadrantes (43,18%), 3 mujeres presentaban tres cuadrantes afectados (6,81%) y 4 pacientes tenían cuatro cuadrantes afectados (9,1%).

En el **grupo P16 (-)**, en 32 pacientes se afectó un cuadrante (46,37%), en 29 dos cuadrantes (42,02%), en 4 tres cuadrantes (5,79%) y en otras 4 pacientes, cuatro cuadrantes (5,79%).

Comparamos mediante la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) los grupos de población P16 (+) y P16 (-) resultando una “p” de 0,615. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos subgrupos.

- **Resultado final:**

Valorando la muestra global de estudio a los 24 meses de seguimiento (Tabla 6), obtuvimos los siguientes resultados.

- Abandonos: En la muestra inicial de 113 pacientes, 12 pacientes abandonaron el estudio (10,61%) por diversos motivos (embarazo, emigración, motivos laborales, etc.), 5 (4,42%) de ellas a los 6 meses y 7 (6,19%) a los 12 meses.

En el **grupo P16 (+)**, abandonaron 6 pacientes (13,63%), 3 (6,81%) a los 6 meses y 3 (6,81%) a los 12 meses.

RESULTADOS

En el **grupo P16 (-)**, abandonaron 6 pacientes también (8,69%), 2 (2,89%) a los 6 meses y 4 (5,79%) a los 12 meses.

- Persistencia: Persistieron 60 mujeres en la población de estudio (53,1%), 20 con el diagnóstico histológico de L-SIL (17,7% del 53,1%) y 40 (35,39% del 53,1%) pacientes con otros criterios de persistencia, como citología con resultado L-SIL o ASCUS, cambios colposcópicos menores o mayores y/o presencia de virus del papiloma humano de alto riesgo.

En el **grupo P16 (+)**, persistieron 23 pacientes (52,27%), 8 (18,8% del 52,27%) cuya biopsia rezaba el diagnóstico de L-SIL y 15 (34,1% del 52,27%) con otros criterios de persistencia como hemos detallado arriba.

En el **grupo P16 (-)**, persistieron 37 pacientes (53,62%), 12 (17,39% del 53,62%) con el diagnóstico histológico de L-SIL y 25 (36,23% del 53,62%) con otras características de persistencia.

- Curación: Curaron 19 pacientes de las estudiadas (16,8%).

En el **grupo P16 (+)**, curaron 7 pacientes (16%).

En el **grupo P16 (-)**, curaron 12 mujeres (17,39%).

- Progresión: Progresaron 22 pacientes (19,46%), 4 (3,53%) a los 6 meses, 14 (12,38%) a los 12 meses y 4 (3,53%) a los 24 meses.

En el **grupo P16 (+)**, progresaron 8 mujeres (18,18%), 3 (6,81%) a los 6 meses y 5 (11,36%) a los 12 meses.

En el **grupo P16 (-)**, progresaron 14 pacientes (20,28%), 1 (1,44%) a los 6 meses, 9 (13,04%) a los 12 meses y 4 (5,79%) a los 24 meses.

Comparamos mediante la prueba Ji Cuadrado de Pearson (X^2) los subgrupos de “resultado final” para las cuatro categorías (Abandono, Persistencia, Curación y Progresión), de la población P16 (+) y P16 (-), resultando una “p” de 0,944. Por tanto, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

- **Intervenciones realizadas: tratamiento escisional:**

La escisión con asa de diatermia fue introducida por Cartier en 1984, para la práctica de biopsias cervicales con fines diagnósticos. Posteriormente, Prendiville(240), en 1989 extendió la técnica con finalidad terapéutica al introducir asas de mayor tamaño que permitieran, la exéresis de toda la zona de transformación.

RESULTADOS

Analizando los resultados de la población de estudio a los 24 meses (Tabla 6), obtenemos los siguientes datos.

- LEEP: Hemos realizado 16 intervenciones tipo LEEP (14,15%) (Imagen 5) en el grupo de pacientes persistentes que presentaban una lesión histológica tipo L-SIL (20 mujeres). Así, 6 (13,36%) pacientes pertenecían al grupo P16 (+) de inicio y 10 (14,49%) al grupo P16 (-) inicial.
- CONIZACIÓN con asa de diatermia: Practicamos 24 conizaciones con asa de diatermia (21,23%). Las indicaciones fueron las siguientes: en 22 casos se realizaron conizaciones bajo el juicio clínico de H-SIL y en 2 casos la causa fue la persistencia de la lesión L-SIL.

En el **grupo P16 (+)** de inicio, se realizaron 9 conizaciones (20,45%), 8 casos diagnosticados de progresión H-SIL y 1 caso por persistencia de L-SIL.

En el **grupo P16 (-)**, se realizaron 15 conizaciones (21,73%), 14 por progresión a H-SIL y 1 por persistencia de L-SIL.

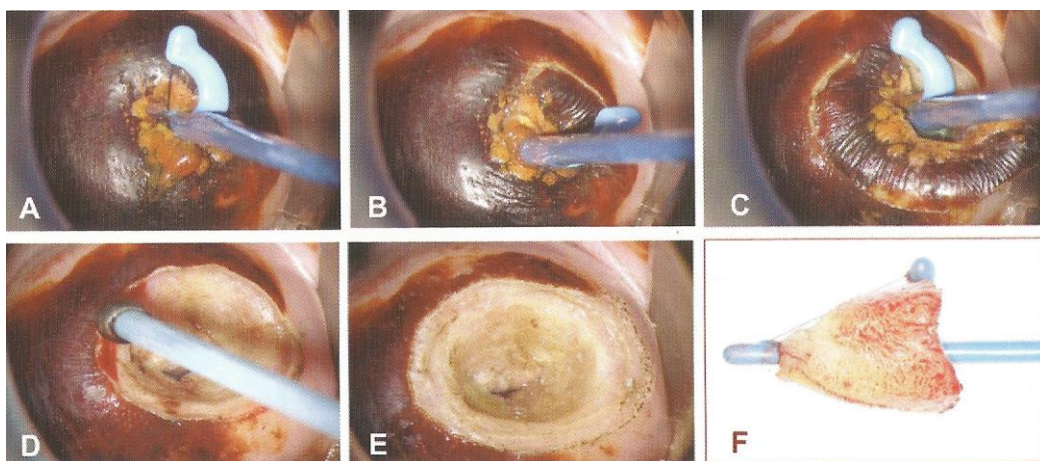


Imagen 1. Técnica de Conización con asa de diatermia, modelo Fisher.

A, B, C: Movimiento rotatorio de 360 ° del asa, comenzando a las 12 horarias.

D: Coagulación monopolar en modo spray, a 80-90 vatios de potencia.

E: Resultado final tras la extracción de la pieza.

F: Muestra cervical cónica obtenida, sobre el asa de diatermia.

(Tomado del Curso de formación Continuada. Prevención del Cáncer Cervical: Vacunación y Colposcopia. 2011 Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

RESULTADOS



Imagen 2. Modelos de asas de diatermia utilizadas en la conización. En la imagen de la derecha se expone el asa de Fisher. En el extremo de la izda vemos la bola de coagulación monopolar. (Tomado del Curso de formación Continuada. Prevención del Cáncer Cervical: Vacunación y Colposcopia. 2011 Programa de formación continuada de la SEGO, en colaboración con la Sociedad Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)).

La nueva Terminología Colposcópica del cuello uterino 2011 propuesta por la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC)(231) recoge 3 tipos de Tratamientos escisionales de las lesiones cervicales:

- Tipo 1: La escisión reseca una **zona completamente ectocervical** o zona de transformación tipo 1.
- Tipo 2: Se reseca una **pequeña cantidad de epitelio endocervical**, que es visible con un colposcopio. Extirpa una zona de transformación tipo 2.
- Tipo 3: Se reseca una zona de tejido cervical más larga y más grande que en las escisiones tipo 1 y 2, e incluye **una cantidad significativa de epitelio endocervical**. Toma una zona de transformación tipo 3. También se puede usar para tratar la enfermedad glandular o enfermedad microinvasiva.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS	TOTAL N=113	P 16 (+) N=44 38,93%	P 16 (-) N=69 61,06%	P IC 95%
• EDAD				0,991
- Media	34,13	34,18	34,08	
- Mediana	33	35	32	
- Rango	(17-64)	(17-64)	(21-64)	
• PARIDAD	N, %	N, %	N, %	0,5
- 0	53 46,9	18 41	35 50,7	
- 1	53 46,9	22 50	31 45	
- >1	7 6,2	4 9	3 4,3	
• FUMAR	N, %	N, %	N, %	0,271
- No	56 49,5	19 43,18	37 53,62	
- < 10	34 30,1	15 34,1	19 27,53	
- 10-20	20 17,7	10 22,72	10 14,49	
- > 20	3 2,65	0 0	3 4,34	
• ANTICONCEPCIÓN	N, %	N, %	N, %	0,686
- Barrera	66 58,4	25 56,81	41 59,42	
- DIU	5 4,42	3 6,81	2 2,9	
- Hormonal	16 14,15	5 11,36	11 16	
- Otros	26 23	11 25	15 21,7	
• CONSTANCIA PREVIA	N, %	N, %	N, %	
- Si	75 66,37	27 61,36	48 69,56	
- No	38 33,62	17 38,63	21 30,43	
• CITOLOGÍA 0 MES	N, %	N, %	N, %	0,210
- Bajo grado	90 79,64	36 81,81	54 78,26	
- Alto grado	23 20,35	8 18,18	15 21,73	
• VPH al inicio	N, %	N, %	N, %	
- Ausente	14 12,38	4 9,1	10 14,5	
- VPH – AR y BR	18 15,93	9 20,45	9 13,04	
- VPH - AR/16/18 y BR	1 0,88	0 0	1 1,45	
- VPH – AR	33 29,20	15 34,1	18 26,08	
- VPH - AR/16	12 10,62	6 13,64	6 8,69	
- VPH - AR/16 y BR	9 7,96	4 9,1	5 7,25	
- VPH - AR/16/18	1 0,88	0 0	1 1,45	
- VPH – AR 18	2 1,76	0 0	2 2,89	
- VPH - AR/18 y BR	1 0,88	0 0	1 1,45	
- VPH – BR	22 19,47	6 13,64	16 23,18	
• COLPOSCOPIA 0 MES	N, %	N, %	N, %	0,225
- Normal	2 1,76	2 4,54	0 0	
- Cambios menores	80 70,79	31 70,45	49 71,01	
- Cambios mayores	31 27,43	11 25	20 28,98	
• CUADRANTES AFECTOS 0 MES	N, %	N, %	N, %	0,615
- 0	2 1,76	2 4,54	0 0	
- 1	48 42,47	16 36,36	32 46,37	
- 2	48 42,47	19 43,18	29 42,02	
- 3	7 6,20	3 6,81	4 5,79	
- 4	8 7,08	4 9,1	4 5,79	
• RESULTADO FINAL	N, %	N, %	N, %	0,944
- ABANDONOS	12 10,61	6 13,63	6 8,69	
- 6 meses	5 4,42	3 6,81	2 2,89	
- 12 meses	7 6,19	3 6,81	4 5,79	
- PERSISTENCIA	60 53,1	23 52,27	37 53,62	
- L-SIL	20 17,7	8 18,18	12 17,39	
- Otros.	40 35,39	15 34,1	25 36,23	
- CURACIÓN	19 16,8	7 16	12 17,39	
- PROGRESIÓN	22 19,46	8 18,18	14 20,28	
- 6 meses	4 3,53	3 6,81	1 1,44	
- 12 meses	14 12,38	5 11,36	9 13,04	
- 24 meses	4 3,53	0 0	4 5,79	
• TRATAMIENTO ESCISIONAL	N, %	N, %	N, %	
- LEEP	16 14,15	6 13,36	10 14,49	
- CONIZACION asa diatermia	24 21,23	9 20,45	15 21,73	
- Progresión	22 19,46	8 18,18	14 20,28	
- Persistencia	2 1,76	1 2,27	1 1,44	

Tabla 6. TABLA GENERAL: Características generales de la muestra estudiada.

RESULTADOS

Por otra parte, analizamos por separado tres grupos según el resultado final del estudio. Es decir, hemos analizado los siguientes 3 subgrupos:

5.1.1.1.- Grupo de PROGRESIÓN.

5.1.1.2.- Grupo de PERSISTENCIA.

5.1.1.3.- Grupo de CURACIÓN.

5.1.1.1.- Grupo de PROGRESIÓN.

En este apartado analizamos las características del grupo de pacientes que progresaron a lesión de alto grado H-SIL (Tabla 7).

Como ya se expuso arriba, progresaron 22 pacientes (19,46%, del total de pacientes que iniciaron el estudio): **8** (18,18%) pertenecientes al **grupo P16 (+)** de inicio y **14** (20,28%) al **grupo P16 (-)**.

- Edad:

La edad media de este grupo ha sido 35,04 años, con un rango de 18 a 53 años.

En el **grupo P16 (+)** la media de edad fue de 35,68 años y un rango de 18 a 53 años.

En el **grupo P16 (-)** la media de edad es de 34,7 años, con un rango de 24 a 53 años.

- Paridad:

En este grupo, 7 pacientes eran nulígestas (31,81%, de las 22 pacientes que progresaron), 13 primíparas (59,09%) y 2 multíparas (9,09%).

En el **grupo P16 (+)**, 3 pacientes eran nulíparas (37,5%, de las 8 pacientes que progresaron en este grupo), 4 primíparas (50%) y 1 multípara (12,5%).

En el **grupo P16 (-)**, 4 mujeres son nulígestas (28,57%, de las 14 que progresaron en este grupo), 9 primíparas (64,28%) y 1 multípara (7,14%).

- Hábito tabáquico:

No eran fumadoras 12 mujeres (54,54%, de las 22 pacientes de este grupo), 5 fumaban < 10 de cigarrillos al día (22,72%), 4 fumaban entre 10 y 20 cigarrillos al día (18,18%) y 1 paciente fumaba > 20 cigarrillos al día (4,54%).

En el **grupo P16 (+)**, 6 paciente no eran fumadoras (75%, de las 8 pacientes del grupo) y 2 fumaban < 10 cigarros al día (25%).

RESULTADOS

En el **grupo P16 (-)**, 6 pacientes no fumaban (42,85%, de 14 pacientes de este grupo), 3 fumaban < 10 cigarrillos al día (21,42%), 4 fumaban entre 10 y 20 cigarrillos al día (28,57%) y 1 paciente fumaba > 20 cigarros al día (7,14%).

- Método anticonceptivo:

El método anticonceptivo más comúnmente usado fue el método barrera, 9 pacientes (40,91%, de las 22 mujeres de este grupo), 1 paciente utilizaba el DIU (4,54%), 3 utilizaban un método anticonceptivo hormonal (13,63%) y 9 mujeres realizaban otros métodos anticonceptivos (40,91%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes utilizaban método anticonceptivo barrera (25%, de las 8 pacientes pertenecientes a este grupo), 1 mujer utilizaba método hormonal (12,5%) y 5 pacientes realizaban otros métodos anticonceptivos (62,5%).

En el **grupo P16 (-)**, 7 pacientes utilizaban método barrera (50%), 1 era portadora de DIU (7,14%), 2 utilizaban un método hormonal (14,28%) y 4 mujeres realizaban otros métodos (28,57%).

- Constancia previa:

En 15 de 22 pacientes de este grupo (**68,18%**), teníamos **constancia previa** de la no existencia de patología cervical. Sin embargo, en 7 pacientes (31,82%), no disponíamos de información de patología cervical.

En el **grupo P16 (+)**, en 5 mujeres conocíamos los antecedentes de controles citológicos (62,5%, de los 8 pacientes de este subgrupo) y en 3 no (37,5%).

En el **grupo P16 (-)**, en 10 pacientes sí conocíamos los antecedentes cervicales (71,43%, de los 14 pacientes pertenecientes a este grupo) y en 4 no (28,57%).

- Citología presentada previamente al inicio del estudio:

En el momento 0, 14 pacientes (63,63%, de las 22 mujeres que componen el grupo) presentaban una citología de bajo grado (ASCUS de repetición / L-SIL) y 8 pacientes (**36,36%**) una **citología de alto grado** (H-SIL, ASC-H, AGC).

En el **grupo P16 (+)**, 5 portaban una citología de bajo grado (62,5%, de las 8 pacientes de este grupo) y 3 una citología de alto grado (37,5%).

En el **grupo P16 (-)**, 9 pacientes presentaban una citología de bajo grado (64,28%, de las 14 pacientes que componían este grupo) y 5 portaban una citología de alto grado (35,71%).

RESULTADOS

- Presencia del Virus del Papiloma Humano:

En el momento 0 del estudio, 3 pacientes no estaban infectadas por virus del papiloma humano (Ausente) (13,63%; de las 22 pacientes de este grupo); 5 pacientes presentaban infección por virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo (VPH-AR y BR) (22,72%) en los que no se incluían los genotipos 16 y 18; una paciente presentaba infección por los virus de alto riesgo genotipos 16 y 18, junto a virus de bajo riesgo (VPH-AR/16/18 y BR) (4,54%); 5 mujeres se infectaron por virus de alto riesgo, distintos de los genotipos 16 y 18 (VPH-AR) (22,72%); en 5 pacientes identificamos la presencia de virus de alto riesgo genotipo 16 (VPH-AR/16) (22,72%); por último, 3 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo genotipo 16 y virus de bajo riesgo (VPH-AR/16 y BR) (13,63%). En este grupo de pacientes **no identificamos infecciones virales simples por el genotipo 18, ni asociados con virus de bajo riesgo en infección múltiple.**

Así, en el momento 0 del estudio, en este grupo que progresó, el **86,33%** presentaba infección por **virus de alto riesgo.**

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes no presentaban infección viral (Ausente) (25%, de 8 pacientes de este subgrupo); 3 estaban infectadas por virus de alto y bajo riesgo (VPH-AR y BR) (37,5%); 2 mujeres se infectaron por virus de alto riesgo (VPH-AR) (25%); por último, 1 estaba infectada por virus de alto riesgo genotipo 16 (VPH-AR/16) (12,5%).

En este subgrupo que progresó P 16 (+) (8 pacientes), el **75%** de las pacientes estaban infectadas por **virus del papiloma humano de alto riesgo.**

En el **grupo P16 (-)**, una paciente no presentaba infección viral (Ausente) (7,14%, de las 14 pacientes de este subgrupo); 2 pacientes presentaban infección conjunta por virus de alto y bajo riesgo (VPH-AR y BR) (14,28%); una paciente tenía infección múltiple por virus de alto riesgo, incluidos los genotipos 16 y 18, y virus de bajo riesgo (VPH-AR/16/18 y BR) (7,14%); 3 pacientes presentaban infección por virus de alto riesgo (VPH-AR) (21,42%); 4 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo, incluido el genotipo 16 (VPH-AR/16) (28,57%); por último, 3 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo, incluido el genotipo 16, y virus de bajo riesgo (VPH-AR/16 y BR) (21,42%).

En este subgrupo P16 (-) (14 mujeres), el **92,83%** presentaba infección por el **virus del papiloma humano de alto riesgo.**

RESULTADOS

- Impresión colposcópica:

En el momento 0 del estudio, 16 pacientes presentaban cambios menores colposcópicos (72,72%, de las 22 mujeres de este subgrupo); 6 presentaban cambios mayores (27,27%).

Ninguna paciente de este subgrupo de progresión tenía una colposcopia normal.

En el **grupo P16 (+)**, 6 pacientes presentaban cambios menores (75%, de las 8 pacientes de este subgrupo); 2 presentaban cambios mayores (25%).

En el **grupo P16 (-)**, 10 pacientes presentaban cambios menores (71,43%, de las 14 mujeres de este subgrupo); 4 presentaban cambios mayores (28,57%).

- Número de cuadrantes del cuello uterino afectados:

En este apartado estudiamos los cuadrantes del cuello uterino afectados, en los momentos 0 mes, 6 meses, 12 meses y 24 meses del estudio (Tabla 7).

- En el momento 0 del estudio, 6 pacientes presentaban 1 cuadrante afecto (27,27%, de las 22 pacientes de este subgrupo); 9 dos cuadrantes afectados (40,91%); 4 tres cuadrantes afectados (18,18%) y 3 pacientes tenían 4 cuadrantes afectados (13,63%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes tenían 1, 2, 3 y 4 cuadrantes afectados respectivamente (25 % cada una, de las 8 pacientes de este subgrupo).

En el **grupo (P16 -)**, 4 pacientes presentaban un cuadrante afecto (28,57%, de las 14 mujeres de este subgrupo); 7, dos cuadrantes afectados (50%); 2, tres cuadrantes afectados (14,28%) y una, cuatro cuadrantes afectados (7,14%).

- En el momento 6 meses del estudio, una paciente no presentaba ningún cuadrante afecto, es decir, la colposcopia era normal. En este caso no se realizó biopsia y el caso fue catalogado como discordancia cito colposcópica, ya que el resultado de la citología del cepillado endocervical fue H-SIL y en la colposcopia no aparecían hallazgos patológicos (procedía de la cohorte del grupo P16 (-) en el momento 0 mes); 1 paciente tenía afecto un cuadrante (33,33%, de las 3 pacientes de este subgrupo que realizamos biopsia) y 2 mujeres tenían afectado dos cuadrantes (66,66%).

En el **grupo P16 (+)**, 1 paciente tenía un cuadrante afecto (33,33%, de las 3 pacientes de este subgrupo) y 2 presentaban dos cuadrantes afectados (66,66%).

No había pacientes en el **grupo P16 (-)**.

RESULTADOS

○ En el momento 12 meses del estudio, 2 pacientes presentaban un cuadrante afecto (11,11%, de las 18 pacientes de este subgrupo); 9 dos cuadrantes (50%); 3 mujeres, tres cuadrantes (16,66 %) y 4, cuatro cuadrantes (22,22%).

En el **grupo (P16 +)**, 1 paciente presentaba un cuadrante afecto (7,14%, de las 14 mujeres de este subgrupo); 6 dos cuadrantes (42,85%); 3 tres cuadrantes (21,42%) y 4 pacientes cuatro cuadrantes (28,57%).

En el **grupo (P16 -)**, 1 paciente presentaba un cuadrante afecto (25%, de los 4 pacientes de este subgrupo) y 3 mujeres 2 cuadrantes afectos (75%).

○ En el momento 24 meses del estudio 1 paciente no presentaba cuadrantes afectos (25%, de las 4 pacientes de este subgrupo), es decir, tenía una colposcopia sin hallazgos patológicos; 2 pacientes presentaban 2 cuadrantes afectos (50%) y 1 paciente presentaba cuatro cuadrantes afectos (25%).

En el **grupo (P16 +)**, 2 pacientes presentaban dos cuadrantes afectos (66,66%); 1 mujer tenía cuatro cuadrantes afectos (33,33%).

En el **grupo (P16 -)**, sólo una paciente presentaba una colposcopia normal. En su citología de control de los 24 meses rezaba ASC-H y en el cepillado endocervical ASC-H/AGC. En la biopsia cervical que se practicó, siguiendo la rutina de biopsias a realizar, no se halló displasia. Por tanto, la situación clínica era de una discordancia cito histológica.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS	TOTAL N = 22 (19,46%)	P 16 (+) al inicio N = 8 (18,18%)	P 16 (-) al inicio N = 14 (20,28%)
• EDAD			
- Media	35,04	35,68	34,07
- Rango	(18-53)	(18-53)	(24-53)
• PARIDAD	N, %	N, %	N, %
- 0	7 31,81	3 37,5	4 28,57
- 1	13 59,09	4 50	9 64,28
- >1	2 9,09	1 12,5	1 7,14
• FUMAR	N, %	N, %	N, %
- No	12 54,54	6 75	6 42,85
- < 10	5 22,72	2 25	3 21,42
- 10-20	4 18,18	0 0	4 28,57
- > 20	1 4,54	0 0	1 7,14
• ANTICONCEPCIÓN	N, %	N, %	N, %
- Barrera	9 40,91	2 25	7 50
- DIU	1 4,54	0 0	1 7,14
- Hormonal	3 13,63	1 12,5	2 14,28
- Otros	9 40,91	5 62,5	4 28,57
• CONSTANCIA PREVIA	N, %	N, %	N, %
- Si	15 68,18	5 62,5	10 71,43
- No	7 31,82	3 37,5	4 28,57
• CITOLOGÍA 0 MES	N, %	N, %	N, %
- Bajo Grado	14 63,63	5 62,5	9 64,28
- Alto grado	8 36,36	3 37,5	5 35,71
• VPH	N, %	N, %	N, %
- Ausente	3 13,63	2 25	1 7,14
- VPH – AR y BR	5 22,72	3 37,5	2 14,28
- VPH - AR/16/18 y BR	1 4,54	0 0	1 7,14
- VPH – AR	5 22,72	2 25	3 21,42
- VPH - AR/16	5 22,72	1 12,5	4 28,57
- VPH - AR/16 y BR	3 13,63	0 0	3 21,42
- VPH - AR/16/18	0 0	0 0	0 0
- VPH – AR 18	0 0	0 0	0 0
- VPH - AR/18 y BR	0 0	0 0	0 0
- VPH – BR	0 0	0 0	0 0
• COLPOSCOPIA 0 MES	N, %	N, %	N, %
- Normal	0 0	0 0	0 0
- Cambios menores	16 72,72	6 75	10 71,43
- Cambios mayores	6 27,27	2 25	4 28,57
• CUADRANTES AFECTOS 0 MES	N, % (n = 22)	N, % (n = 8)	N, % (n = 14)
- 0	0 0	0 0	0 0
- 1	6 27,27	2 25	4 28,57
- 2	9 40,91	2 25	7 50
- 3	4 18,18	2 25	2 14,28
- 4	3 13,63	2 25	1 7,14
• CUADRANTES AFECTOS 6 MESES	N, % (n = 4)	N, % (n = 4)	N, % (n = 0)
- 0	1 25	1 25	0
- 1	1 25	1 25	0
- 2	2 50	2 50	0
- 3	0 0	0 0	0
- 4	0 0	0 0	0
• CUADRANTES AFECTOS 12 MESES	N, % (n = 18)	N, % (n = 14)	N, % (n = 4)

RESULTADOS

• CUADRANTES AFECTOS 12 MESES	N, % (n = 18)	N, % (n = 14)	N, % (n = 4)
- 0	0 0	0 0	0 0
- 1	2 11,11	1 7,14	1 25
- 2	9 50	6 42,85	3 75
- 3	3 16,66	3 21,42	0 0
- 4	4 22,22	4 28,57	0 0
• CUADRANTES AFECTOS 24 MESES	N, % (n = 4)	N, % (n = 3)	N, % (n = 1)
- 0	1 25	0 0	1 100
- 1	0 0	0 0	0 0
- 2	2 50	2 66,66	0 0
- 3	0 0	0 0	0 0
- 4	1 25	1 33,33	0 0

Tabla 7. TABLA PROGRESIÓN: Características generales del subgrupo de pacientes que progresaron.

- Momento de progresión (Tabla 8):

4 pacientes progresaron a los 6 meses (18,18%, de las 22 mujeres que progresaron en total); 14 a los 12 meses (63,63%) y 4 a los 24 meses (18,18%).

De las **44 pacientes P16 (+) al inicio del estudio**, 3 progresaron a los 6 meses (6,8%, de las 44 mujeres de este subgrupo) y 5 pacientes a los 12 meses (11,36%):

De las **69 mujeres que presentaban P16 (-) al inicio del estudio**, 1 progresó a los 6 meses (1,44%, de las 69 pacientes de este subgrupo), 9 progresaron a los 12 meses (13,04%) y 4 a los 24 meses (5,79%).

MES de PROGRESIÓN	Total progresión = 22 N , %	P16 (+) = 8 N , %	P16 (-) = 14 N , %
6 meses	4 18,18	3 37,5	1 7,14
12 meses	14 63,63	5 62,5	9 64,28
18 meses	0 0	0 0	0 0
24 meses	4 18,18	0 0	4 28,57

Tabla 8. Momentos del seguimiento en el que ocurrió la progresión y su correlación con la sobre expresión de la proteína P16 al inicio.

- Biopsia previa a la realización de la conización:

Se realizaron 21 biopsias de cérvix (Tabla 9), en este grupo de progresión, previas a la realización de la conización con asa de diatermia.

RESULTADOS

En **un caso**, como ya se ha referido, **no se realizó biopsia previa**, ya que presentaba la paciente una colposcopia normal.

Otra paciente **no presentó displasia** en el resultado de la biopsia, por tanto se catalogó como un caso de discordancia cito/histológica. Esta paciente **no** sobre expresaba **P16** en la muestra histológica tomada.

Diecisiete pacientes, es decir, el **81%** de las biopsias previas realizadas mostraban **H-SIL (CIN II)**. **Todas** ellas **sobre expresaban la proteína P16**.

Una paciente presentaba una lesión cervical H-SIL (**CIN II/III**) previa a la realización de la conización. También **sobre expresó la proteína P16**.

Dos pacientes mostraban una lesión cervical H-SIL (**CIN III**), previa a la conización. Ambas sobre **expresaban la proteína P16**.

Biopsia previa conización	Total N = 21	P 16 (+) N = 19	P 16 (-) N = 1
No Displasia *	1		1
CIN II	17	17	
CIN II/III	1	1	
CIN III	2	2	

*Discordancia Cito/Histológica.

Tabla 9. Biopsias cervicales, de los casos que progresaron, previas a la realización de la conización.

- Resultado Anatomopatológico de las conizaciones realizadas:

De las 22 conizaciones con asa de diatermia, realizadas bajo la indicación de H-SIL, obtuvimos los siguientes resultados (Tabla 10):

Un caso no presentó **displasia** alguna en el estudio histológico de la pieza de conización.

Otro caso fue diagnosticado de **L-SIL (CIN I)**.

En **10** pacientes diagnosticamos H-SIL (**CIN II**) y en otras **10** H-SIL (**CIN III**). Por tanto, en el **91%** de las conizaciones realizadas se diagnosticó **H-SIL**.

RESULTADOS

Anatomía Patológica Conización	Total de conizaciones x progresión	
	N = 22	100%
No Displasia	1	4,54
CIN- I	1	4,54
CIN- II	10	45,45
CIN- III	10	45,45

Tabla 10. Resultados anatomopatológicos de las piezas de conización realizadas a las pacientes que progresaron.

- Relación entre la Biopsia cervical previa y la Conización posterior:

La paciente que no realizamos biopsia cervical al presenta discordancia cito/colposcópica fue diagnosticada en la pieza de conización de un H-SIL (CIN III).

El otro caso en el que la biopsia cervical previa a la conización rezaba como no displasia (Discordancia cito/histológica), la histología del cono mostró H-SIL (CIN II).

En las 21 pacientes que progresaron (en 1 caso no se realizó biopsia) se realizaron **29 tomas de biopsias cervicales dirigidas por colposcopia**. De las cuales obtuvimos los siguientes resultados histológicos:

- CIN I-II (H-SIL): 6.
- CIN II (H-SIL): 19.
- CIN II-III (H-SIL): 1.
- CIN III (H-SIL): 3.

Si en una paciente realizamos varias biopsias cervicales, el diagnóstico definitivo estaba basado en el resultado histológico de mayor entidad. Por tanto, en una paciente en particular podía presentar varias lesiones de alto grado CIN III.

Así (Tabla 11), obtuvimos 17 resultados (**81%** de los 21 pacientes) diagnósticos H-SIL (**CIN II**), **previos a la realización de la conización**. La histología del cono resultante fue: 7 CIN III, 9 CIN II y 1 No Displasia.

Una paciente que presentó el diagnóstico H-SIL (CIN II-III) en la biopsia cervical previa a la conización, mostró en la pieza de conización L-SIL (CIN I). Ello ocurrió a los 6 meses de seguimiento.

RESULTADOS

Las otras 2 pacientes que tenían H-SIL (CIN III) en las muestras de biopsias, previa a la conización, presentaron en la pieza de conización 2 H-SIL (CIN III).

Biopsia previa	N 21	Conización	N 22				
No realizada *	1	CIN III	1				
No Displasia **	1	CIN II	1				
CIN II	17	CIN III	7	CIN II	9	No Displasia	1
CIN II / III	1	CIN I	1				
CIN III	2	CIN III	2				

*Discordancia Cito/Colposcópica y **Cito/Histológica.

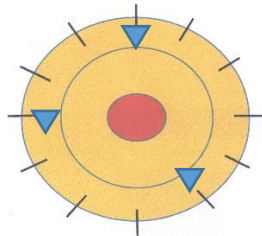
Tabla 11. Correlación histológica entre el resultado de la biopsia cervical, previa a la realización de la conización, y la pieza de conización.

RESULTADOS

- Estudio particular de las pacientes que han progresado.

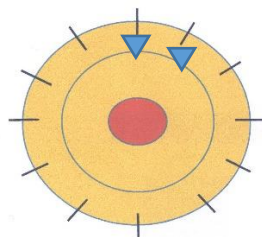
Caso N° 1:

- 38 años.
- AO: G2A1C1. (AO: Antecedentes Obstétricos; G= Gestaciones; A= Abortos; C= Cesáreas; P=Partos vaginales).
- Fumadora: no.
- Método anticonceptivo: no utiliza.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: Citologías ASCUS (2 consecutivas).
- 0 mes, VPH-AR: 33 y BR: 54.
- Colposcopia 0 mes:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 12, 5 y 9 horas: L-SIL (CIN I). P (16 +) en las 3. ▼



Esquema. 1.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Colposcopia 6 meses:
 - Cambios mayores.
 - Biopsias: 12 y 1 horas: H-SIL (CIN II/III). P16 (+): ▼



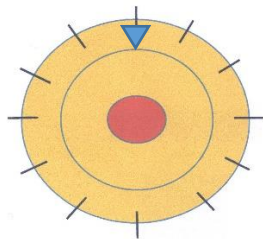
Esquema. 2.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: L-SIL (CIN I).

RESULTADOS

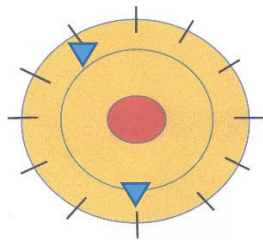
Caso N° 2:

- 18 años.
- AO: G0.
- Fumadora: no.
- Método anticonceptivo: AHO.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: Citología ASC-H.
- 0 mes, VPH-AR: 35, 58. BR: 54
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia: 12 h: L-SIL (CIN I). P16 (+). ▼



Esquema. 3.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Colposcopia 6 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 11 y 6 h.: H-SIL (CIN-II). P 16 (+) ambas. ▼



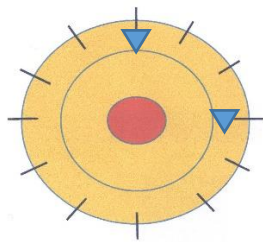
Esquema. 4.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). Márgenes libres.

RESULTADOS

Caso N° 3:

- 42 años.
- AO: G3P3.
- Fumadora: 10-20 /día.
- Método anticonceptivo: Barrera.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: Citología H-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16. (Aporta VPH: 16, privado).
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12 y 3 h: L-SIL (Atipia coilocítica). P 16 (-) ambas. ▼



Esquema. 5.

- Citología control 6 meses: H-SIL.
- Colposcopia 6 meses:
 - o Normal.
 - o Vaginoscopia: normal.
 - o Cepillado endocervical: H-SIL.(Discordancia Cito / Colposcópica).
- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III). Afectación de los cuadrantes de 3 a 6 h (sentido horario). Contacta puntualmente con margen endocervical.

RESULTADOS

A continuación exponemos las imágenes colposcópicas presentadas a los 6 meses:

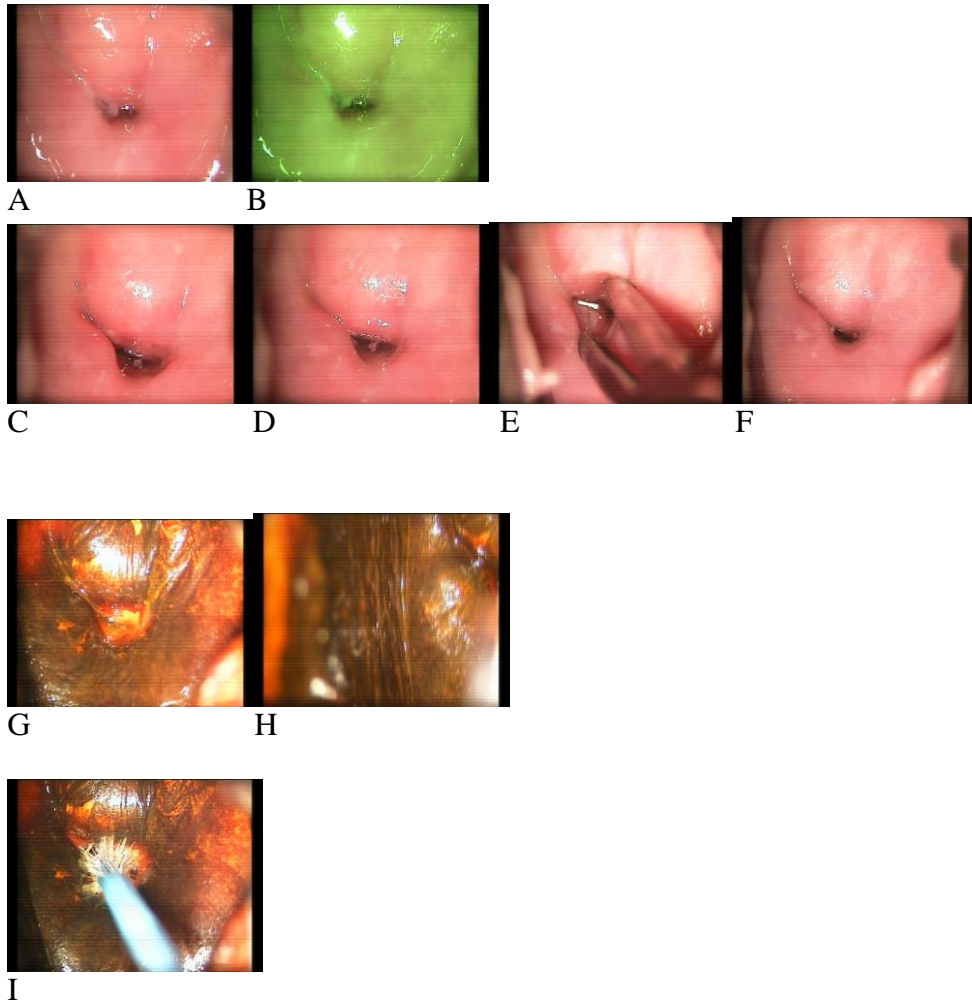


Imagen 3. Colposcopia del caso n° 3 realizada a los 6 meses.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D, E, F: Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3 %.

G: Test de Schiller cervical.

H: Tinción con lugol de vagina.

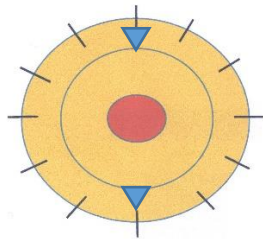
I: Cepillado endocervical.

Elaboración propia.

RESULTADOS

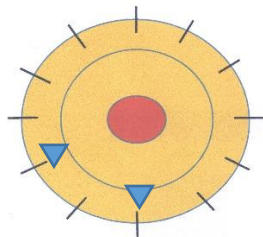
Caso N° 4:

- 39 años.
- AO: G2P2.
- Fumadora: no consta.
- Método anticonceptivo: no utiliza.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: Citología ASCUS (Extra clínico) y VPH-AR: 31.
- Colposcopia 0 mes:
 - Cambios mayores.
 - Biopsias: 12 y 6 h: L-SIL (CIN I extensa). P16 (+). ▼



Esquema. 6.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Colposcopia 6 meses:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 6 y 8 h: H-SIL (CIN II). P 16 (+) ambas ▼



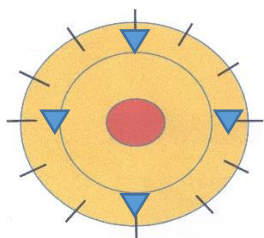
Esquema. 7.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II con focos III). P 16 (+). Márgenes libres.

RESULTADOS

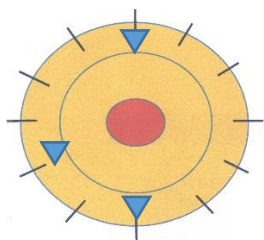
Caso N° 5:

- 38 años.
- AO: G2P2.
- Fumadora: 10-20 /día.
- Método anticonceptivo: no consta.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: Citología L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 52, 58, 59. BR: 42, 54, 66, 73, 82, GP6108.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 3, 6 y 9 h: (Cuatro cuadrantes): L-SIL. P 16 (-) (positiva focal). ▼



Esquema. 8.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: L-SIL.
- VPH-AR: 52,59, 66. BR: 42, 53, 61 (posteriormente considerado de alto riesgo), 73.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 6 y 8 h.



- 12 h: No displasia. P 16 (+).
- 6 h: H-SIL. (CIN-II). P 16 (-).
- 8 h: No valorable.

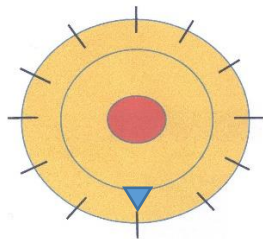
Esquema. 9.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P 16 (-).
No valoración de los bordes por fragmentación de la pieza.

RESULTADOS

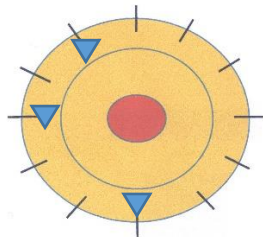
Caso N° 6:

- 44 años.
- AO: G2P2.
- Fumadora: 10-20 /día.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: ASC-H.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 58.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsia: 6 h: L-SIL. P 16 (-). ▼



Esquema. 10.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Citología control 12 meses: H-SIL
- VPH-AR: 16.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsias: 11, 6, 9 h. ▼



- 6 h: L-SIL + H-SIL. (CIN-I/II). P 16 (+).
- 9 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).
- 11 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).

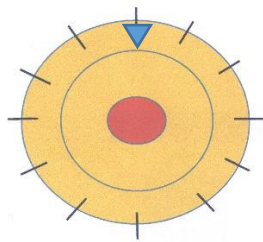
Esquema. 11.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III). P 16 (+). Bordes no afectados.

RESULTADOS

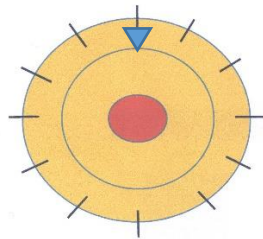
Caso N° 7:

- 35 años.
- AO: G2C2.
- Fumadora: < 10 /día.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 31, 52. BR: 42,
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia: 12 h: L-SIL (Atipia coilocítica). P 16 (-). ▼



Esquema. 12.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: L-SIL
- 12 meses, VPH-AR: 16.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia: 12 h: L-SIL/H-SIL (CIN I/II). P 16 (+). ▼



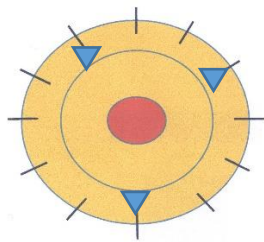
Esquema. 13.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P 16 (+).
Bordes no evaluados por extensa denudación epitelial.

RESULTADOS

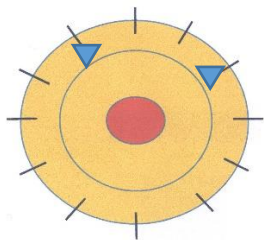
Caso N° 8:

- 24 años.
- AO: G1P1.
- Fumadora: no.
- Método anticonceptivo: hormonal.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: ASCUS.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 45. BR: 84.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsias: 2, 6, 11 h: L-SIL. P 16 (-). ▼



Esquema. 14.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: L-SIL
- 12 meses, VPH-AR: 16, 18, 39, 51, 58.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsias: 11, 2 h.



- 2 h: L-SIL. (CIN-I). P 16 (-).
- 11 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).

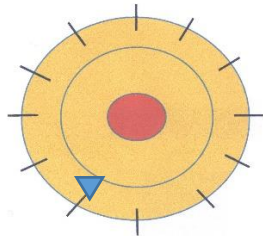
Esquema. 15.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P 16 (+). Bordes libres.

RESULTADOS

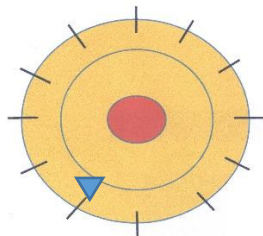
Caso N° 9:

- 33 años.
- AO: G1P1.
- Fumadora: < 10/día.
- Método anticonceptivo: no consta.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: H-SIL.
- 0 mes, No detectado VPH.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsia: 7 h: L-SIL. P 16 (-). ▼



Esquema. 16.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Colposcopia 6 meses: cambios menores.
 - o Biopsia a las 7 h. L-SIL. P16 (+). HPV-AR.
- Citología control 12 meses: L-SIL
- 12 meses, VPH-AR: 31.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia: 7 h: H-SIL (CIN II). P 16 (+). ▼



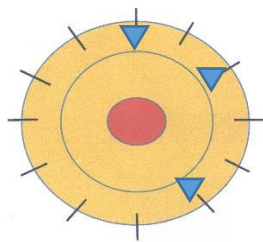
Esquema. 17.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: Ausencia de displasia.
Ampliación de 6-9 h: no displasia.

RESULTADOS

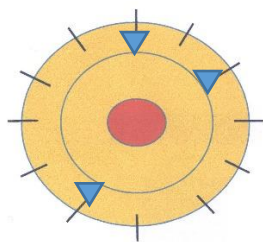
Caso N° 10:

- 31 años.
- AO: G0.
- Fumadora: < 10/día.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 31. BR: 42.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 2, 5 h: L-SIL. P 16 (-) (positivo focal). ▼



Esquema. 18.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: ASC-H.
- 12 meses, VPH-AR: 31.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 2, 7 h. ▼



- 12 h: L-SIL/H-SIL. (CIN I/II). P 16 (+).
- 2 h: Muestra no valorable.
- 7 h: L-SIL. P 16 (+).

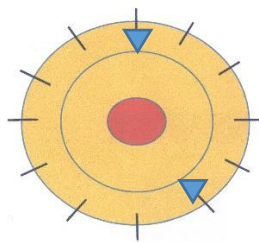
Esquema. 19.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II/III). P 16 (+). Estado de bordes no valorables por artefacto de cauterio.

RESULTADOS

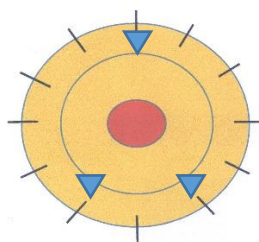
Caso N° 11:

- 42 años.
- AO: G3.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: H-SIL.
- 0 mes, VPH-AR. (No realizado genotipado).
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 5 h: L-SIL. P 16 (+) ambas. ▼



Esquema. 20.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: H-SIL.
- 12 meses, VPH-AR: 16, 35, 52, 66. BR: 55.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 5, 7 h. ▼



- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">- 12 h: H-SIL. (CIN I/II). P 16 (+).- 5 h: H-SIL. (CIN I/II). P 16 (-).- 7 h: H-SIL. (CIN II/III). P 16 (+). |
|--|

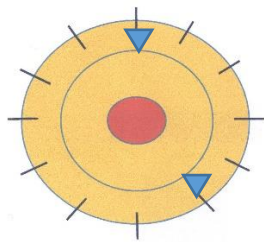
Esquema. 21.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II/III).
Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

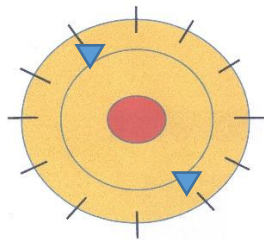
Caso N° 12:

- 37 años.
- AO: G3.
- Fumadora: < 10/día.
- Método anticonceptivo: coito interruptus.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 59.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 5 h. L-SIL. P 16 (+), no confirmado si son ambas. ▼



Esquema. 22.

- Citología control 6 meses: ASCUS.
- Citología control 12 meses: L-SIL.
- 12 meses, VPH-AR: 16, 51, 59. BR: 53, 81.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 11, 5 h. ▼



- 11 h: L-SIL. (CIN I). P 16 (-).
- 5 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).

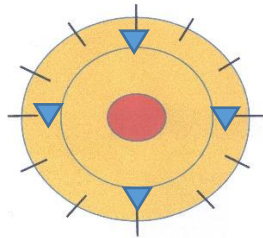
Esquema. 23.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II/III), que afecta desde las 6 a 9 horarias. Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

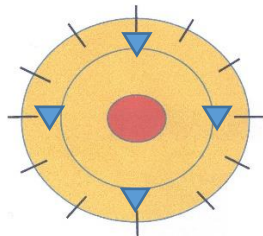
Caso N° 13:

- 38 años.
- AO: G0.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH: No detectados; ausentes.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 3, 6, 9 h. L-SIL. P16 (+) (No confirmada la zona P16 +). ▼



Esquema. 24.

- Citología control 6 meses: ASCUS.
- Citología control 12 meses: ASC-H.
- 12 meses, VPH-AR: 33. BR: 61 (Posteriormente considerado de alto riesgo).
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 3, 6, 9 h. ▼



- 12 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).
- 3 h: Cervicitis. P 16 (-).
- 6 h: Cervicitis. P 16 (-).
- 9 h: Cervicitis. P 16 (-).

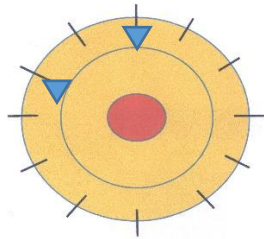
Esquema. 25.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III). P16 no determinado.
Bordes no valorables.

RESULTADOS

Caso N° 14:

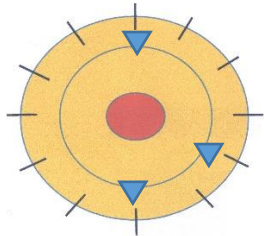
- 43 años.
- AO: G2.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: vasectomía.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: ASC-H.
- 0 mes, VPH-AR: 33.
- Colposcopia 0 mes:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 12, 10 h. P16 (-) positivo focal. ▼



- 12 h: No displasia. P 16 (-).
- 10 h: L-SIL. P 16 (-).

Esquema. 26.

- Citología control 6 meses: ASC- H.
- Colposcopia 6 meses:
 - Cambios mayores.
 - Biopsias: 12, 4, 6 h. ▼

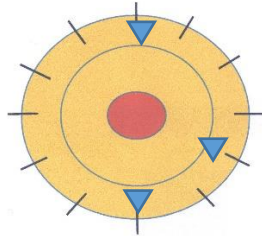


- 12 h: No displasia. P 16 (-).
- 4 h: L-SIL. P 16 (-).
- 6 h: Normal. P16 (-).

Esquema. 27.

RESULTADOS

- Citología control 12 meses: ASC-H.
- 12 meses, VPH-AR: 33.
- Colposcopia 12 meses:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 12, 4, 6 h. ▼



- 12 h: L-SIL. P 16 (-).
- 4 h: H-SIL (CIN II). P 16 (+).
- 6 h: Normal. P16 (-).

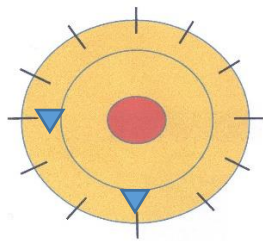
Esquema. 28.

- Conización con asa de diatermia:
Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III), localizado entre las 3 y 6 h. P16 (+). Foco de lesión L-SIL entre las 12 y 3 h.
Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

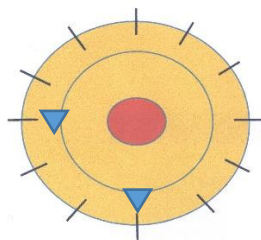
Caso N° 15:

- 27 años.
- AO: G0.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: hormonal.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 52, 56, 58. BR: 6, 54, 61, 73, GP6108.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 6, 9 h. Ambas L-SIL.P16 (+), sin especificar la zona concreta. ▼



Esquema. 29.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: H-SIL.
- 12 meses, VPH-AR: 16, 31, 35. BR: 81, 83.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 6, 9 h. ▼



- 6 h: H-SIL (CIN II) P16 (+).
- 9 h: H-SIL (CIN II) P16 (+).

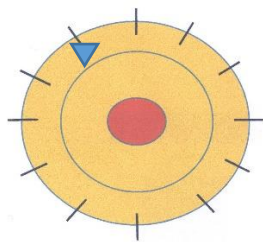
Esquema. 30.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P16 no determinado. Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

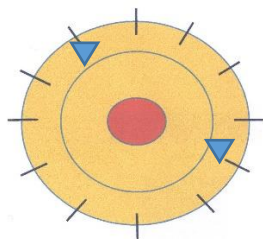
Caso N° 16:

- 47 años.
- AO: G2.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: vasectomía.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: ASC-H.
- 0 mes, VPH-AR: 16.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia 11 h. P16 (-) (Positivo focal). ▼



Esquema. 31.

- Citología control 6 meses: normal.
- Citología control 12 meses: L-SIL.
- 12 meses, VPH-AR: 16.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 11, 4 h. ▼



- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">- 11 h: L-SIL (CIN- I) P16 (-).- 4 h: H-SIL (CIN- II) P16 (+). |
|---|

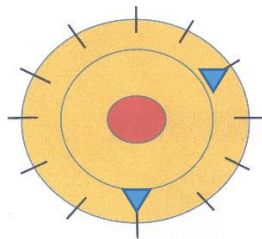
Esquema. 32

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III). P16 (+).
Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

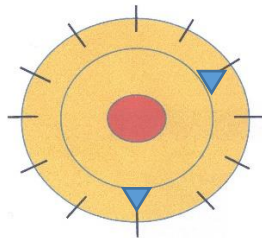
Caso N° 17:

- 27 años.
- AO: G1.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: DIU.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 51.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios mayores.
 - o Biopsias: 2, 6 h. L-SIL. P16 (-). ▼



Esquema. 33.

- Citología control 6 meses: normal.
- Citología control 12 meses: H-SIL.
- VPH-AR: 16, 52. BR: 6.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 2, 6 h. ▼



- 2 h: H-SIL (CIN - II) P16 (+).
- 6 h: H-SIL (CIN - II) P16 (+).

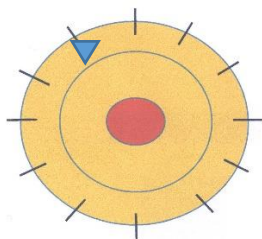
Esquema. 34.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P16 (+). Bordes no valorados.

RESULTADOS

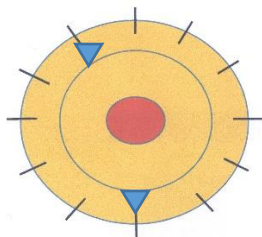
Caso N° 18:

- 26 años.
- AO: G1.
- Fumadora: > 20 / día.
- Método anticonceptivo: barrera.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 51, 68. BR: 62, GP6108.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsia: 11 h. L-SIL (Atipia coilocítica focal). P16 (-). ▼



Esquema. 35.

- Citología control 6 meses: ASCUS.
- Citología control 12 meses: normal.
- VPH-AR: 16, 51. BR: 42, 62, GP6108.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 11, 6 h. ▼



- 11 h: H-SIL (CIN - II) P16 (+).
- 6 h: No displasia. P16 (-).

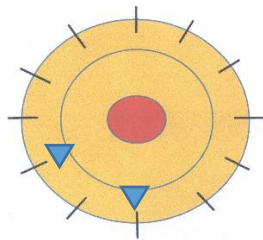
Esquema. 36.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II), localizado entre las 12 y 3 h. P16 no determinada. Bordes libres de lesión.

RESULTADOS

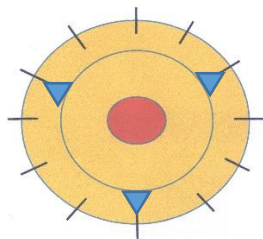
Caso N° 19:

- 28 años.
- AO: G0.
- Fumadora: 10-20 / día.
- Método anticonceptivo: barrera.
- No constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16, 18, 39, 52, 59. BR: 6, 42, 61.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 6, 8 h. P16 (-) (positiva focal). ▼



Esquema. 37.

- Citología control 6 meses: L-SIL.
- Citología control 12 meses: L-SIL.
- 12 meses, VPH-AR: 16, 18, 32. BR: 6, 26, 62, 84.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 2, 6, 10 h. ▼



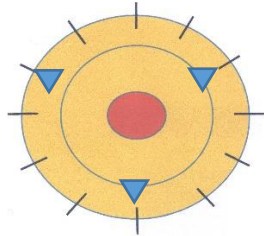
- 2 h: L-SIL. P16 (+).
- 6 h: L-SIL. P16 (+).
- 10 h: L-SIL. P16 (+).

(Nota: no se especifica donde es positiva la P16).

Esquema. 38.

RESULTADOS

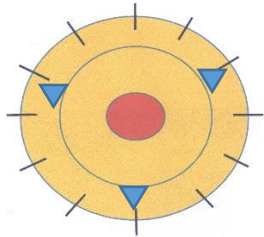
- Citología control 18 meses: H-SIL. Condilomas vulvar - anal.
- Colposcopia: Cambios menores. AP: L-SIL, P16: positivo.▼



- 2 h: L-SIL. P16 (+).
- 6 h: L-SIL. P16 (+).
- 10 h: L-SIL. P16 (-).

Esquema. 39.

- Citología control 24 meses: H-SIL.
- 24 meses, VPH-AR: 16, 18, 52, 59. BR: 6, 42, 54.
- Colposcopia 24 meses:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 2, 6, 10 h. ▼



- 2 h: L-SIL. P16 (+).
- 6 h: H-SIL. (CIN II). P16 (+).
- 10 h: L-SIL. P16 (+).

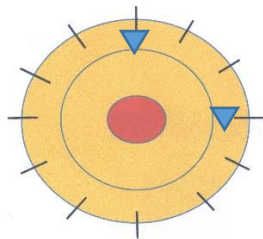
Esquema. 40.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III), P16 no determinada. Borde endocervical afecto.

RESULTADOS

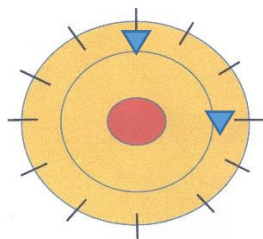
Caso N° 20:

- 31 años.
- AO: G0.
- Fumadora: NO.
- Método anticonceptivo: hormonal.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: no detectado.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 12, 3 h. L-SIL. P16 (-) ▼



Esquema. 41.

- Citología control 6 meses: ASCUS.
- Citología control 12 meses: normal.
- 12 meses, VPH-AR: 16. BR: 42, 55, 62.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores y mayores.
 - o Biopsias: 12 y 3 h. ▼



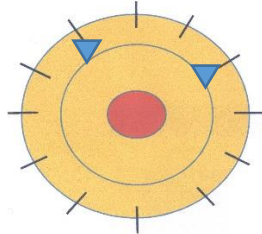
- 12 h: Cervicitis. P16 (-).
- 3 h: L-SIL. (Atipia coilocítica). P16 (-).

Esquema. 42.

- Citología control 18 meses: L-SIL.

RESULTADOS

- Citología control 24 meses: L-SIL.
- 24 meses, VPH-AR: 16, 18, 52, 59. BR: 6, 42, 54.
- Colposcopia 24 meses:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 11, 2 h. ▼



- 11 h: H-SIL (CIN I/II). P16 (+).
- 2 h: No displasia. P16 (-).

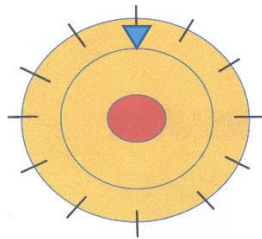
Esquema. 43.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III), la lesión afecta los 4 cuadrantes.
P16 no determinada.
Borde ectocervical afecto.

RESULTADOS

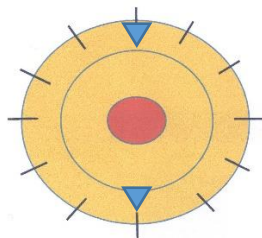
Caso N° 21:

- 53 años.
- AO: G2.
- Fumadora: < 10/día.
- Método anticonceptivo: no utiliza.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: ASC-H.
- 0 mes, VPH-AR: 33, 35, 52, 56, 58, 68.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12h. L-SIL (Atipia coilocítica). P16 (-) (Positivo focal). ▼



Esquema. 44.

- Citología control 6 meses: ASC-H.
- Colposcopia 6 meses:
 - o Biopsias 12 y 6 h: No displasia. P16 (-). ▼

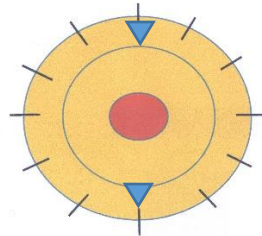


- 12 h: No Displasia. P16 (-).
- 6 h: No displasia. P16 (-).

Esquema. 45.

RESULTADOS

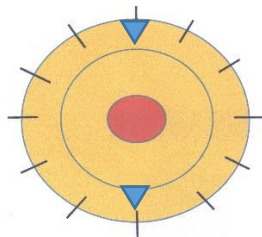
- Citología control 12 meses: normal.
- 12 meses, VPH-AR: 56, 58. BR: 67.
- Colposcopia 12 meses:
 - Cambios menores.
 - Biopsias: 12, 6 h. ▼



- 12 h: No Displasia. P16 (-).
- 6 h: No displasia. P16 (-).

Esquema. 46.

- Citología control 18 meses: normal.
- Citología control 24 meses: ASC-H.
- VPH-AR: 56, 58.
- Colposcopia 24 meses:
 - Normal.
 - Biopsias cervicales: 12, 6 h. ▼
 - Vaginoscopia: zona yodonegativa en cara lateral dcha. de vagina que se biopsia.



- 12 h: No Displasia. P16 (-).
- 6 h: No displasia. P16 (-).
- Biopsia vaginal: no displasia.
- Citología endocervical: ASC-H/AGC.

Esquema. 47.

- Conización con asa de diatermia bajo el diagnóstico de Discordancia Cito/Histológica. Anatomía Patológica: H-SIL (CIN II). P16 no determinada.
Borde endocervical afecto.

RESULTADOS

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas realizadas a los 24 meses:

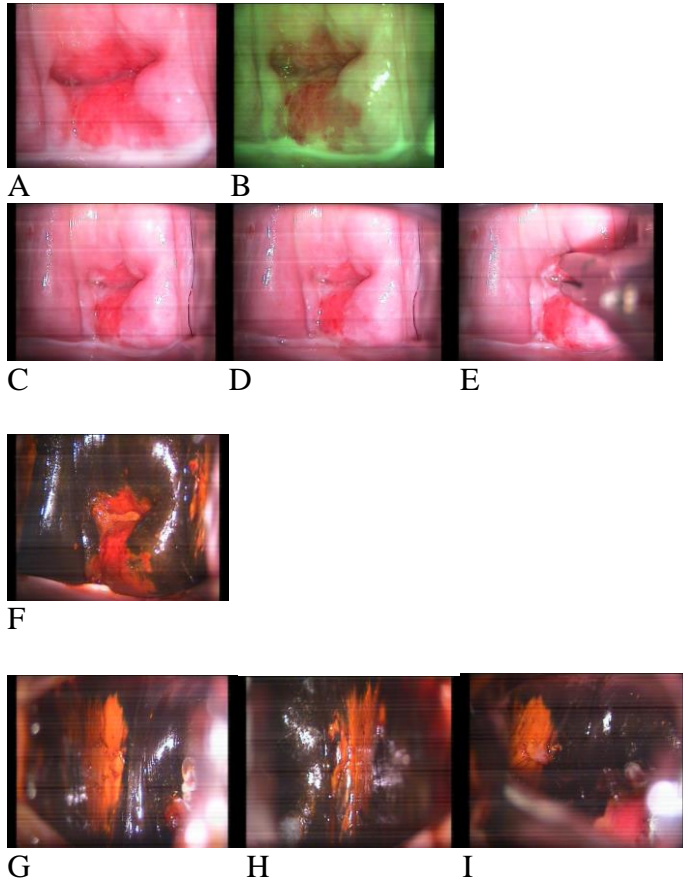


Imagen 4. Imágenes colposcópicas del caso n° 21 realizadas a los 24 meses.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D, E: Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3 %.

F: Test de Schiller.

G, H: Biopsias cervicales.

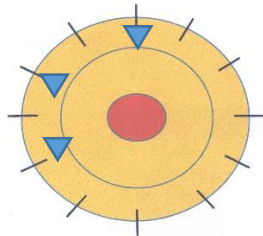
I: Biopsia vaginal.

Elaboración propia.

RESULTADOS

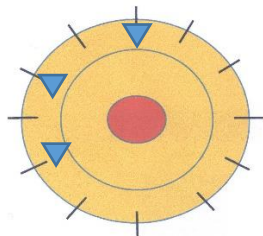
Caso N° 22:

- 32 años.
- AO: G0.
- Fumadora: No.
- Método anticonceptivo: barrera.
- Constancia previa de histórico cervical.
- Remitida por presentar: L-SIL.
- 0 mes, VPH-AR: 16.
- Colposcopia 0 mes:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 8, 10 h. L-SIL. P16 (-). (Positivo focal). ▼



Esquema. 48.

- Citología control 6 meses: normal.
- Citología control 12 meses: normal.
- VPH-AR: 16. BR: 83.
- Colposcopia 12 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 8, 10 h. ▼



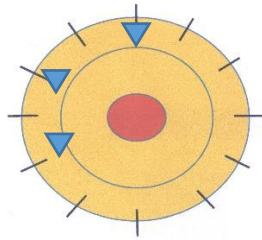
- 12 h: L-SIL. P16 (-).
- 8 h: No displasia. P16 (-).
- 10 h: No valorable.

Esquema. 49.

- Citología control 18 meses: normal.

RESULTADOS

- Citología control 24 meses: ASCUS.
- 24 meses, VPH-AR: 16.
- Colposcopia 24 meses:
 - o Cambios menores.
 - o Biopsias: 12, 8, 10 h. ▼



- 12 h: No displasia. P16 (-). (Focalmente positivo).
- 8 h: No displasia. P16 (-).
- 10 h: H-SIL (CIN II/III). P16 (+).

Esquema. 50.

- Conización con asa de diatermia: Anatomía Patológica: H-SIL (CIN III), que afecta los cuadrantes desde 12 a 3 h.
P16 no determinada.
Borde libres.

RESULTADOS

5.1.1.2.- Grupo de PERSISTENCIA.

En esta sección analizaremos las características del grupo de pacientes que persistieron (Tabla 12). Como ya recogimos en la tabla general, persistieron 60 pacientes (53,1%, del total de pacientes que iniciaron el estudio, (N=113): 23 (38,33%; 23/60) pertenecientes al grupo P16 (+) de inicio y 37 (61,66%; 37/60) al grupo P16 (-). Por otra parte, de los 60 pacientes pertenecientes a este grupo, 20 (33,33%) presentaban persistencia ante la presencia de una lesión L-SIL en la biopsia realizada a los 24 meses y 40 (66,66%) pacientes mostraban otros criterios de persistencia: cambios menores/mayores colposcópicos, alteraciones citológicas de bajo grado (ASCUS/L-SIL) y/o presencia de virus del papiloma humano de alto riesgo.

- Edad:

La edad media fue de 34,1 años, con un rango de edad comprendido entre 19 y 64 años.

En el **grupo P16 (+)**, la media de edad fue de 33,5 años, con un rango de 19 a 48 años.

En el **grupo P16 (-)**, la media de edad ha sido de 34,45 años, con un rango de edad de 20 a 64 años.

- Paridad:

En el grupo de persistencia, 29 pacientes fueron nuligestas (48,33%, de las 60 pacientes que formaban este grupo); 28 primíparas (46,66%) y 3 mujeres habían tenido más de un parto (5%).

En el **grupo P16 (+)**, 9 pacientes fueron nuligestas (39,13%, de las 23 mujeres pertenecientes a este subgrupo), 13 primíparas (56,52%) y 1 paciente había tenido más de un parto (4,34 %).

En el **grupo P16 (-)**, 20 pacientes eran nuligestas (54,05%, de las 37 mujeres de este subgrupo), 15 primíparas (40,54%) y 2 habían tenido más de un parto (5,40%).

- Hábito tabáquico:

En este grupo de persistencia, 30 pacientes no eran fumadoras (50%, de las 60 pacientes que formaban este grupo); 19 fumaban menos de 10 cigarrillos al día (31,66%); 10 fumaban entre 10 y 20 cigarrillos al día (16,66%) y una fumaba más de 20 cigarros al día (1,66%).

RESULTADOS

En el **grupo P16 (+)**, 7 mujeres no fumaban (30,43%, de las 23 pacientes de este subgrupo); 10 fumaban menos de 10 cigarros al día (43,47%) y 6 mujeres fumaban entre 10 y 20 cigarros al día (26,08%).

En el **grupo P16 (-)**, 23 pacientes no fumaban (62,16%, de las 37 pacientes pertenecientes a este subgrupo); 9 fumaban menos de 10 cigarrillos al día (24,32%); 4 fumaban entre 10 y 20 cigarrillos al día (10,81%) y una paciente fumaba más de 20 cigarros al día (2,70%).

- Método anticonceptivo:

En este grupo de persistencia, 41 pacientes utilizaban método anticonceptivo barrera (68,33%, de las 60 mujeres pertenecientes a este grupo); 3 eran portadoras de DIU (5%); 9 utilizaban un método anticonceptivo hormonal (15%) y 7 mujeres utilizaban otros métodos anticonceptivos (11,66%).

En el **grupo P16 (+)**, 16 pacientes utilizaron un método anticonceptivo barrera (69,56%, de las 23 pacientes de este subgrupo); 3 eran portadoras de DIU (13,04%); 2 utilizaban un método anticonceptivo hormonal (8,69%) y otras 2 mujeres usaban otros métodos anticonceptivos (8,69%).

En el **grupo P16 (-)**, 25 pacientes eran usuarias de un método anticonceptivo barrera (67,56%, de las 37 mujeres pertenecientes a este subgrupo); 7 utilizaban un método anticonceptivo hormonal (18,92%) y 5 mujeres practicaban otros métodos anticonceptivos (13,51%).

- Constancia previa:

En el momento del inicio del estudio (0 mes), en 39 pacientes si teníamos constancia del historial de citología previas (65%, de las 60 pacientes de este grupo) y en 21 mujeres no teníamos esta información (35%).

En el **grupo P16 (+)**, en 13 pacientes teníamos constancia de su historial citológico (56,52%, de las 23 pacientes de este subgrupo) y en 10 mujeres no (43,47%).

En el **grupo P16 (-)**, en 26 pacientes teníamos constancia de su historial citológico (70,27%, de las 37 pacientes de este subgrupo) y en 11 no (29,73%).

- Citología presentada previamente al inicio del estudio:

En este grupo de persistencia, 50 pacientes presentaban citologías de bajo grado (ASCUS/L-SIL) (83,33%, de las 60 pacientes de este grupo) y 10 presentaban citologías

RESULTADOS

de alto grado (H-SIL) (16,66%). Por presentar estas alteraciones citológica fueron remitidas a nuestro servicio para la realización de la colposcopia.

En el **grupo P16 (+)**, 18 pacientes presentaban una citología de bajo grado (78,26%, de las 23 pacientes de este subgrupo) y 5 tenían una citología de alto grado (21,73%).

En el **grupo P16 (-)**, 32 mujeres eran portadoras de una citología de bajo grado (86,48%, de las 37 pacientes de este subgrupo) y 5 de una citología de alto grado (13,51%).

- Presencia del Virus del Papiloma Humano:

En el momento 0 del estudio 5 pacientes no portaban virus del papiloma humano (8,33%, de las 60 mujeres de este grupo); 10 tenían virus de alto y bajo riesgo (16,66%); 19 estaban infectadas por virus de alto riesgo (31,66%); 5 pacientes presentaban infección por virus de alto riesgo, genotipo 16 (8,33%); 3 mujeres estaban infectadas por virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 16, asociado a virus de bajo riesgo (5%); una paciente presentaba infección por virus de alto riesgo, genotipos 16 y 18 de forma conjunta (1,66%); en 2 pacientes se identificó infección por el virus del papiloma de alto riesgo, genotipo 18 (3,33%); una paciente presentaba infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 18, asociado a virus de bajo riesgo (1,66%). Por último, 14 pacientes presentaron infección por virus de bajo riesgo (23,33%).

Así, podemos concluir que el **68,3%** de las pacientes de este grupo estaban infectadas por **virus de alto riesgo**.

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes no estaban infectadas (8,69%, de las 23 pacientes de este subgrupo); 5 presentaban una infección por virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo (21,73%); 9 estaban infectadas por virus del papiloma humano de alto riesgo, distintos a los genotipos 16/18 (39,13%); 3 pacientes estaban infectadas por virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 16 (13,04%); en 2 pacientes identificamos infección por virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 16, asociados a virus de bajo riesgo (8,69%) y 2 pacientes estaban infectadas por virus del papiloma humano de bajo riesgo (8,69%).

Así, el **82.59 %** de las 23 pacientes de este subgrupo estaban infectadas por **virus del papiloma humano de alto riesgo**, frente al 59.44% del grupo P16 (-).

En el **grupo P16 (-)**, 3 pacientes no presentaban infección por el virus del papiloma humano (8,11%, de las 37 pacientes de este subgrupo); 5 mujeres estaban infectadas por

RESULTADOS

virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo (13,51%); 10 pacientes portaban virus del papiloma humano de alto riesgo, distintos a los genotipos 16 y 18 (27,03%); 2 pacientes estaban infectadas por virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 16 (5,40%); una paciente portaba infección por virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 16, asociado a virus de bajo riesgo (2,70%); otra paciente se infectó, de forma simultánea, por virus de alto riesgo genotipo 16 y 18 (2,70%); 2 pacientes presentaban infección por el virus del papiloma humano de alto riesgo, genotipo 18 (5,40%); una paciente presentaba infección por el virus de alto riesgo, genotipo 18, y virus de bajo riesgo (2,70%). Por último, 12 pacientes tenían infección por virus del papiloma humano, de bajo riesgo (32,43%).

Así, el **59,44%** de las pacientes de este subgrupo estaban infectadas por **virus del papiloma humano de alto riesgo**.

- Impresión colposcópica:

En el grupo de persistencia, en el momento 0 del estudio, 2 pacientes presentaron una colposcopia normal (3,33%, de las 60 mujeres que componen el grupo); 41 mostraban una colposcopia con cambios menores (68,33%) y 17 pacientes tenían una colposcopia con cambios mayores (28,33%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes presentaban una colposcopia normal (8,69%, de las 23 mujeres de este subgrupo); 15 tenían cambios menores (65,21%) y 6 cambios mayores (26,08%).

En el **grupo P16 (-)**, 26 mujeres tenían una colposcopia con cambios menores (70,27%, de las 37 pacientes de este subgrupo) y 11 cambios mayores (29,72%).

- Número de cuadrantes del cuello uterino afectados:

En el momento 0 mes del estudio, 2 pacientes no tenían cuadrantes afectados (colposcopia normal) (3,33%, de las 60 mujeres de este grupo); 25 pacientes tenían un cuadrante afecto (41,66%); 26 pacientes 2 cuadrantes afectados (43,33%); 3 mujeres 3 cuadrantes afectados (5%) y 4 pacientes 4 cuadrantes afectados (6,66%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 mujeres presentaban una colposcopia normal (no cuadrantes afectados) (8,69%, de las 23 pacientes de este subgrupo); 6 tenían un cuadrante afecto (26,08%); 13 pacientes presentaban 2 cuadrantes afectados (56,52%); una 3 cuadrantes afectados (4,34%) y otra, 4 cuadrantes afectados (4,34%).

RESULTADOS

En el **grupo P16 (-)**, 19 pacientes presentaban un cuadrante afecto (51,35%, de las 37 pacientes de este subgrupo); 13 dos cuadrantes afectados (35,13%); 2 tres cuadrantes afectados (5,40%) y 3 pacientes, 4 cuadrantes afectados (8,11%).

En el momento 12 meses del estudio, 5 pacientes no tenían ningún cuadrante afecto (8,33%, de las 60 mujeres de este grupo); 14 tenían un cuadrante afecto (23,33%); 31 pacientes 2 cuadrantes afectados (51,66%); 8 pacientes 3 cuadrantes afectados (13,33%) y 2, cuatro cuadrantes afectados (3,33%).

En el **grupo P16 (+)**, 4 pacientes presentaban una colposcopia normal (17,39%, de las 23 mujeres de este subgrupo); otras 4 tenían un cuadrante afecto (17,39%); 11 pacientes, 2 afectados (47,82%) y 4, tres cuadrantes afectados (17,39%). No había pacientes que tuvieran 4 cuadrantes afectados.

En el **grupo P16 (-)**, 1 paciente presentaba una colposcopia normal (2,70%, de las 37 mujeres de este subgrupo); 10 mujeres tenían un cuadrante afecto (27,02%); 20 dos cuadrantes afectados (54,05%); 4 tres afectados (10,81%) y 2 mujeres, cuatro cuadrantes afectados (5,40%).

En el momento 24 meses del estudio, 25 pacientes no tenían cuadrantes afectados (41,66%, de las 60 mujeres de este grupo), 4 mujeres presentaban un cuadrante afecto (6,66%); 20, dos cuadrantes afectados (33,33%); 10 tres cuadrantes afectados (16,66%) y 1 paciente, cuatro cuadrantes afectados (1,66%).

En el **grupo P16 (+)**, 7 pacientes presentaban una colposcopia normal (30,43%, de las 23 pacientes de este subgrupo); 1 tenía un cuadrante afecto (4,34%); 11 dos cuadrantes afectados (47,82%); 4 tres afectados (17,39%) y no había pacientes con cuatro cuadrantes afectados.

En el **grupo P16 (-)**, 18 mujeres presentaban una colposcopia normal (48,64%, de las 37 pacientes de este subgrupo); 3 mujeres tenían un cuadrante afecto (8,10%); 9, dos cuadrantes afectados (24,32%); 6, tres afectados (16,21%) y 1, cuatro cuadrantes afectados (2,70%).

A los 24 meses, 60 pacientes persistían (Tabla 13), siendo 20 pacientes (33,33%) las que persistían por presentar una biopsia cervical donde rezaba L-SIL y 40 pacientes (66,66%) presentaron persistencia por otros motivos, sin histología L-SIL.

Así, del **subgrupo L-SIL** (20 pacientes):

- 10 mujeres sólo presentaban biopsia L-SIL (50%).

RESULTADOS

- 4 pacientes presentaban la lesión histológica L-SIL y cambios menores en colposcopia (20%).
- 2 pacientes tenían la lesión histológica L-SIL y una citología ASCUS (10%).
- 2 pacientes presentaban la biopsia L-SIL y la detección de virus del papiloma humano de alto riesgo (10%).
- 1 mujer presentaba dicha lesión histológica L-SIL junto a la presencia de virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo (5%).
- 1 paciente presentó una lesión L-SIL y un virus de bajo riesgo (5%).

En el **subgrupo de persistencia OTROS** (40 pacientes):

- 7 pacientes presentaban cambios menores colposcópicos junto a citología con resultado ASCUS (17,5%).
- 2 pacientes tenían cambios menores colposcópicos junto a citología ASCUS y presencia de virus del papiloma humano de alto riesgo (5%).
- 5 mujeres presentaban cambios menores y presencia de virus del papiloma humano de alto riesgo (12,5%).
- 1 paciente tenía cambios menores junto a la presencia de virus de bajo riesgo (2,5%).
- 1 mujer presentaba hallazgos colposcópicos menores y mayores (2,5%).
- 8 pacientes tenían sólo cambios menores colposcópicos (20%).
- 1 paciente presentaba cambios mayores con citología ASCUS (2,5%).
- 2 pacientes portaban virus del papiloma humano de alto riesgo junto a citología L-SIL (5%).
- 6 mujeres sólo presentaban infección por virus del papiloma humano de alto riesgo (15%).
- 1 paciente presentaba además de la presencia de la infección por virus de alto riesgo, una citología ASCUS (2,5%).
- 6 pacientes sólo portaban citología ASCUS (15%).

Al final del estudio (24 meses), se actuó en este grupo de persistencia de la siguiente manera (Tabla 14):

En el **subgrupo L-SIL** (20 pacientes):

RESULTADOS

- En 14 pacientes realizamos una técnica escisional LEEP, sobre la lesión histológica L-SIL persistente. En 13 de ellas, la histología del LEEP no registró displasia y sólo en un caso se evidenció lesión histológica L-SIL (Tabla 15).
- En 2 mujeres se practicó una conización con asa de diatermia. En una se halló en el estudio histológico la lesión L-SIL y en la otra no presenta displasia (Tabla 15).
- A 4 pacientes se están sometiendo a un seguimiento exhaustivo, mediante la realización de citologías y determinación del virus del papiloma humano (co-test). Hasta el momento del cierre de este estudio, abril/2017, ninguna paciente ha progresado en este subgrupo.

En el **subgrupo OTROS** (40 pacientes):

- En 37 pacientes se realiza un estrecho seguimiento. En este subgrupo han progresado 3 pacientes en el momento del cierre de este estudio en abril/17: una a los 3 años (discordancia cito/histológica, con resultado de la conización H-SIL (CIN II-III) y 2 a los cuatro años, las cuales están pendientes a que se les practique una conización con asa de diatermia.
- Hasta el momento 3 pacientes han abandonado.

CARACTERÍSTICAS	TOTAL N = 60		P 16 (+) al inicio N = 23		P 16 (-) al inicio N = 37	
• Persistencia L-SIL	20	33,33	8	34,78	12	32,43
• Persistencia otros.	40	66,66	15	65,21	25	67,56
• EDAD						
- Media	34,1		33,5		34,45	
- Rango	(19-64)		(19-48)		(20-64)	
• PARIDAD	N, %		N, %		N, %	
- 0	29	48,33	9	39,13	20	54,05
- 1	28	46,66	13	56,52	15	40,54
- >1	3	5	1	4,34	2	5,40
• FUMAR	N, %		N, %		N, %	
- No	30	50	7	30,43	23	62,16
- < 10	19	31,66	10	43,47	9	24,32
- 10-20	10	16,66	6	26,08	4	10,81
- > 20	1	1,66	0	0	1	2,70
• ANTICONCEPCIÓN	N, %		N, %		N, %	
- Barrera	41	68,33	16	69,56	25	67,56
- DIU	3	5	3	13,04	0	0
- Hormonal	9	15	2	8,69	7	18,9 2
- Otros	7	11,66	2	8,69	5	13,51
• CONSTANCIA PREVIA	N, %		N, %		N, %	
- Si	39	65	13	56,52	26	70,27
- No	21	35	10	43,47	11	29,73
• CITOLOGÍA 0 MES	N, %		N, %		N, %	

RESULTADOS

- Bajo Grado	50	83,33	18	78,26	32	86,48
- Alto grado	10	16,66	5	21,73	5	13,51
• VPH	N, %		N, %		N, %	
- Ausente	5	8,33	2	8,69	3	8,11
- VPH – AR y BR	10	16,66	5	21,73	5	13,51
- VPH - AR/16/18 y BR	0	0	0	0	0	0
- VPH – AR	19	31,66	9	39,13	10	27,03
- VPH - AR/16	5	8,33	3	13,04	2	5,40
- VPH - AR/16 y BR	3	5	2	8,69	1	2,70
- VPH - AR/16/18	1	1,66	0	0	1	2,70
- VPH – AR 18	2	3,33	0	0	2	5,40
- VPH - AR/18 y BR	1	1,66	0	0	1	2,70
- VPH – BR	14	23,33	2	8,69	12	32,43
• COLPOSCOPIA 0 MES	N, % (n = 60)		N, % (n = 23)		N, % (n = 37)	
- Normal	2	3,33	2	8,69	0	0
- Cambios menores	41	68,33	15	65,21	26	70,27
- Cambios mayores	17	28,33	6	26,08	11	29,72
• CUADRANTES AFECTOS 0 MES	N, % (n = 60)		N, % (n = 23)		N, % (n = 37)	
- 0	2	3,33	2	8,69	0	0
- 1	25	41,66	6	26,08	19	51,35
- 2	26	43,33	13	56,52	13	35,13
- 3	3	5	1	4,34	2	5,40
- 4	4	6,66	1	4,34	3	8,11
• CUADRANTES AFECTOS 12 MESES	N, % (n = 60)		N, % (n = 23)		N, % (n = 37)	
- 0	5	8,33	4	17,39	1	2,70
- 1	14	23,33	4	17,39	10	27,02
- 2	31	51,66	11	47,82	20	54,05
- 3	8	13,33	4	17,39	4	10,81
- 4	2	3,33	0	0	2	5,40
• CUADRANTES AFECTOS 24 MESES	N, % (n = 60)		N, % (n = 23)		N, % (n = 37)	
- 0	25	41,66	7	30,43	18	48,64
- 1	4	6,66	1	4,34	3	8,10
- 2	20	33,33	11	47,82	9	24,32
- 3	10	16,66	4	17,39	6	16,21
- 4	1	1,66	0	0	1	2,70

Tabla 12. TABLA PERSISTENCIA. Características generales de las pacientes que persistieron.

PERSISTENCIA	TOTAL	
	N, %	
• L-SIL + OTROS	60	100
• L-SIL	20	33,33
- L-SIL	10	50
- L-SIL y cambio menor	4	20
- L-SIL y Citología ASCUS	2	10
- L-SIL y VPH – AR	2	10
- L-SIL y VPH – AR + BR	1	5
- L-SIL y VPH – BR	1	5
• OTROS	40	66,66
- Cambios menores + Citología ASCUS	7	17,5
- Cambios menores + Citología ASCUS + VPH - AR	2	5
- Cambios menores + VPH - AR	5	12,5
- Cambios menores + VPH - BR	1	2,5
- Cambios menores + Cambios mayores	1	2,5
- Cambios menores	8	20
- Cambios Mayores + Citología ASCUS	1	2,5
- VPH – AR + Citología L-SIL	2	5
- VPH – AR	6	15
- Citología ASCUS + VPH – AR	1	2,5
- Citología ASCUS	6	15

Tabla 13. Motivos de persistencia en los Subgrupos L-SIL y Persistencia OTROS.

RESULTADOS

Conducta al final del estudio	Persistencia L-SIL (20)	Persistencia Otros (40)
LEEP	14	0
Conización	2	0
Seguimiento	4	37
Progresión	0	3
Abandono	0	3

Tabla 14. Conducta realizada al final del seguimiento de las pacientes que persistieron.

LEEP	Histología
- 13	- No Displasia
- 1	- L-SIL
Conización	
- 1	- L-SIL
- 1	- No Displasia

Tabla 15. Resultados histológicos de las escisiones LEEP y Conizaciones realizadas en pacientes que progresaron durante los 24 meses de seguimiento.

RESULTADOS

Imágenes colposcópicas de la realización de un LEEP:

Este caso se trataba de una persistencia de la lesión L-SIL en la posición 7 horarias, a los 24 meses de seguimiento (Imagen 5). En la imagen (A) se realiza una observación colposcópica (“en fresco”), sin aplicar acético, ni ningún otro colorante. En la imagen (B) colocamos el filtro de luz verde para visualizar posible neovascularización. En la imagen (C) realizamos el test de Schiller. En la imagen (D) hemos inyectado a las 7 h del cuello uterino un anestésico local. En las imágenes (E y F) pasamos el asa de diatermia, en forma de arco semicircular ojival, sobre el área a extirpar, es decir desde las 9 a 5 horas. En las imágenes (G y H) ya hemos finalizado la técnica de LEEP. El resultado Anatomopatológico rezaba “no displasia”. La paciente se encuentra en seguimiento.

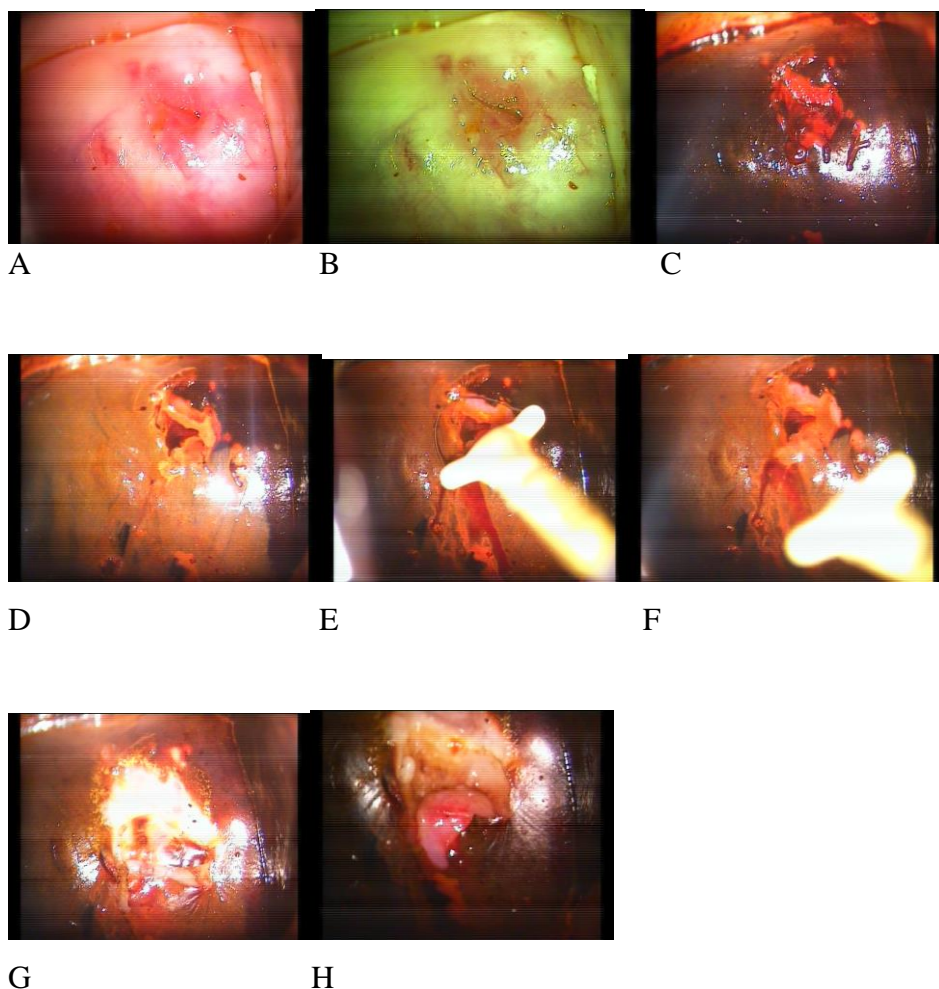


Imagen 5. Imágenes colposcópicas de la realización de un LEEP.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C: Test de Schiller.

D: Aplicación de la anestesia local a las 7 h.

E, F: Realización de la técnica de LEEP con asa de diatermia semicircular.

G, H: Estado del cérvix tras el paso del asa de diatermia.

Elaboración propia.

RESULTADOS

De las 60 pacientes que se han seguido por Persistencia-L-SIL y Persistencia-Otros, en la tabla 16 recogemos los siguientes resultados:

Seguimiento	Curación	Persistencia	Progresión	Abandono
3 años	20 (33,33%)	12 (20%)	1 (1,66%)	11 (18,33%)
4 años	9 (15%)	4 (6,66%)	2 (3,33%)	
5 años		1 (1,66 %)		

Tabla 16. Resultados del seguimiento, a 3 y 4 años, de las pacientes que persistieron.

- Seguimiento a los 3 años:
 - Curados 20 pacientes (33,33%).
 - Progresados 1 paciente (1,66%).
 - Abandonos 11 paciente (18,33%).
 - Persistentes 12 pacientes (20%), que continúan en seguimiento.
- Seguimiento a los 4 años:
 - Curados 9 pacientes (15%).
 - Progresados 2 pacientes (3,33%).
 - Persistentes 4 pacientes (6,66%).
 - No se ha producido ningún abandono.
- Seguimiento a los 5 años:
 - Sólo continúa en seguimiento 1 sólo paciente (Persistencia).

Así, en el momento del cierre del estudio (abril/2017), si sumamos los porcentajes de Progresión, Persistencia y Curación a los 24 meses, con los recogidos en este momento, podemos concluir:

Han **Progresado** 25 pacientes (**22,12%** de los 113 del inicio), han **Curado** 48 pacientes (el **42,47%**) y siguen en **seguimiento** 17 pacientes (**15,04%**). Destacar que el **18,33%** **abandonó** el tercer año de seguimiento. Si lo contabilizamos **en total, abandonaron el estudio**, en estos 5 años, 23 pacientes (**20,35%**).

RESULTADOS

5.1.1.3.- Grupo de CURACIÓN.

En este apartado analizaremos a las pacientes que curaron. Como quedó recogido en la tabla general, curaron 19 mujeres (16,8%, del total de pacientes de inicio), 7 (16%) pertenecientes al subgrupo P16 (+) y 12 (17,39%) al de P16 (-).

- Edad:

La edad media fue de 34.07 años, con un rango de 17 a 51 años.

En el **subgrupo P16 (+)**, la edad media era de 34,8 años, con un rango de 17 a 46 años.

En el **subgrupo P16 (-)**, la edad media fue de 34,7 años, con un rango de 24 a 51 años.

- Paridad:

En el grupo de curación, 11 pacientes eran nulíparas (57,89%, de las 19 mujeres que lo componían), 7 primigestas (36,84%) y 1 paciente era múltipara (5,26%).

En el **grupo P16 (+)**, 4 pacientes eran nuligestas (57,14%, de las 7 pacientes de este subgrupo); 2 primíparas (28,57%) y 1 era múltipara (14,28%).

En el **grupo P16 (-)**, 7 mujeres eran nuligestas (58,33%, de las 12 pacientes que componían este subgrupo) y 5 primíparas (41,66%).

- Hábito tabáquico:

En este grupo de curación, 7 pacientes no fumaban (36,84%, de las 19 pacientes que lo componen); 8 fumaban menos de 10 cigarrillos al día (42,10%); 3 fumaban entre 10 y 20 cigarrillos al día (15,78%) y 1 mujer fumaba más de 20 cigarros al día (5,26%).

En el **grupo P16 (+)**, 2 pacientes no eran fumadoras (28,57%, de las 7 pacientes del total); 3 fumaban menos de 10 cigarros al día (42,85%) y 2 fumaban entre 10 y 20 cigarros al día (28,57%).

En el **grupo P16 (-)**, 5 mujeres no fumaban (41,66%, del total de 12 pacientes); 5 fumaban menos de 10 cigarros al día (41,66%); 1 fumaba entre 10 y 20 cigarrillos al día (8,33%) y otra fumaba más de 20 cigarrillos al día (8,33%).

RESULTADOS

- Método anticonceptivo:

En este grupo de curación, 11 pacientes utilizaban método barrera (57,89%, del total de 19 mujeres); 1 paciente utilizó DIU (5,26%); otra utilizaba método anticonceptivo hormonal (5,26%) y 6 mujeres usaban otros métodos (31,57%).

En el **grupo P16 (+)**, 3 pacientes utilizaban método anticonceptivo barrera (42,85%, de las 7 pacientes de este subgrupo); 1 método anticonceptivo hormonal (14,28%) y 3 pacientes utilizaron otros métodos (42,85%).

En el **grupo P16 (-)**, 8 pacientes utilizaron método anticonceptivo barrera (66,66%, de las 12 mujeres de este subgrupo); una mujer utilizó DIU (8,33%) y 3 pacientes utilizaron otros métodos (25%).

- Constancia previa:

En el momento del inicio del estudio (0 mes), en 12 pacientes (63,15%, de 19 pacientes que componen este grupo) teníamos constancia de la ausencia de patología cervical previa al inicio del estudio y en 7 pacientes (36,84%) no teníamos constancia de su estado de salud cervical.

En el **grupo P16 (+)**, en 5 pacientes si teníamos constancia previa (71,42%, de las 7 mujeres de este subgrupo) y en 2 pacientes no teníamos constancia previa (28,57%).

En el **grupo P16 (-)**, en 7 pacientes si conocíamos sus antecedentes de salud cervical (58,33%) y en 5 pacientes no (41,66%).

- Citología presentada previamente al inicio del estudio:

En este grupo de curación, 16 pacientes presentaban una citología de bajo grado (84,21%, de las 19 mujeres que componen este grupo) y 3 pacientes presentaban una citología de alto grado (15,78%).

En el **grupo P16 (+)**, todas las pacientes, 7 en total (100%) presentaban una citología de bajo riesgo.

En el **grupo P16 (-)**, 9 pacientes tenían una citología de bajo riesgo (75%, del total de 12 mujeres de este subgrupo) y 3 presentaban una citología de alto riesgo (25%).

- Presencia del Virus del Papiloma Humano:

En el momento 0 del estudio, 5 pacientes no estaban infectadas por el virus del papiloma humano (26,31%, de las 19 mujeres de este grupo); una mujer presentaba

RESULTADOS

infección por virus de alto y bajo riesgo (5,26%); 7 pacientes se infectaron por virus de alto riesgo (36,84%); 1 mujer presentaba infección por virus de alto riesgo genotipo 16 (5,26%); 3 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo genotipo 16 y virus de bajo riesgo (15,78%) y 2 pacientes presentaban infección por virus de bajo riesgo (10,52%).

En el **grupo P16 (+)**, 3 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo (42,85%, de las 7 mujeres de este subgrupo); 1 mujer se infectó por virus de alto riesgo genotipo 16 (14,28%); 2 pacientes se infectaron por virus de alto riesgo genotipo 16 y virus de bajo riesgo, de forma conjunta (28,57%) y una paciente portaba una infección por virus de bajo riesgo (14,28%).

En el **grupo P16 (-)**, 5 pacientes no presentaban infección viral (41,66%, de las 12 pacientes de este subgrupo); 1 mujer estaba infectada por virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo (8,33%); 4 pacientes estaban infectadas por virus de alto riesgo (33,33%); 1 paciente presentaba infección por virus de alto riesgo genotipo 16 e infección conjunta con virus de bajo riesgo (8,33%) y en una mujer detectamos infección por virus de bajo riesgo (8,33%).

- Impresión colposcópica:

En el grupo de curación, en el momento 0 del estudio, no tuvimos pacientes que presentaran colposcopia normal; 14 mujeres presentaban cambios menores (73,18%, de las 19 pacientes de este grupo) y 5 presentaron cambios mayores (26,31%).

En el **grupo P16 (+)**, 6 pacientes presentaban cambios menores (85,71%, de las 7 pacientes de este subgrupo) y una, cambios mayores (14,28%).

En el **grupo P16 (-)**, 8 pacientes tenían cambios menores colposcópicos (66,66%) y 4 mujeres cambios mayores (33,33%).

- Número de cuadrantes del cuello uterino afectados:

En el momento 0 del estudio, 11 pacientes presentaban un cuadrante afecto (57,89%, de las 19 mujeres de este grupo); 7 mujeres dos cuadrantes afectados (36,84%) y una paciente, cuatro cuadrantes afectados (5,26%).

En el **grupo P16 (+)**, 5 pacientes tenían un cuadrante afecto (71,42%, de las 7 mujeres de este subgrupo); 1 paciente dos cuadrantes afectados (14,28%) y 1 mujer, cuatro cuadrantes afectados (14,28%).

RESULTADOS

En el **grupo P16 (-)**, 6 pacientes presentaban un cuadrante afecto (50%, de los 12 pacientes de este subgrupo) y otras 6 tenían dos cuadrantes afectados (50%).

En el momento 12 meses del estudio, 2 pacientes presentaban una colposcopia normal (10,52%, de las 19 mujeres de este grupo); 9 tenían un cuadrante afecto (47,36%); 7 dos cuadrantes afectados (36,84%) y una, tres cuadrantes afectados (5,26%). No había pacientes con cuatro cuadrantes afectados.

En el **grupo P16 (+)**, 1 paciente tenía una colposcopia normal (14,28%, de las 7 mujeres de este subgrupo), 3 un cuadrante afecto (42,85%) y otras 3 dos cuadrantes afectados (42,85%).

En el **grupo P16 (-)**, 1 mujer presentaba una colposcopia normal (8,33%, de las 12 pacientes de este subgrupo); 6 tenían un cuadrante afecto (50%); 4, dos cuadrantes afectados (33,33%) y 1 mujer presentaba tres cuadrantes afectados (8,33%).

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS	TOTAL N = 19 (n, %)	P 16 (+) al inicio N = 7 (n, %)	P 16 (-) al inicio N = 12 (n, %)
• EDAD			
- Media	34,07	34,8	34,7
- Rango	(17-51)	(17-46)	(24-51)
• PARIDAD	N, %	N, %	N, %
- 0	11 57,89	4 57,14	7 58,33
- 1	7 36,84	2 28,57	5 41,66
- >1	1 5,26	1 14,28	0 0
• FUMAR	N, %	N, %	N, %
- No	7 36,84	2 28,57	5 41,66
- < 10	8 42,10	3 42,85	5 41,66
- 10-20	3 15,78	2 28,57	1 8,33
- > 20	1 5,26	0 0	1 8,33
• ANTICONCEPCIÓN	N, %	N, %	N, %
- Barrera	11 57,89	3 42,85	8 66,66
- DIU	1 5,26	0 0	1 8,33
- Hormonal	1 5,26	1 14,28	0 0
- Otros	6 31,57	3 42,85	3 25
• CONSTANCIA PREVIA	N, %	N, %	N, %
- Si	12 63,15	5 71,42	7 58,33
- No	7 36,84	2 28,57	5 41,66
• CITOLOGÍA 0 MES	N, %	N, %	N, %
- Bajo Grado	16 84,21	7 100	9 75
- Alto grado	3 15,78	0 0	3 25
• VPH	N, %	N, %	N, %
- Ausente	5 26,31	0 0	5 41,66
- VPH – AR y BR	1 5,26	0 0	1 8,33
- VPH - AR/16/18 y BR	0 0	0 0	0 0
- VPH – AR	7 36,84	3 42,85	4 33,33
- VPH - AR/16	1 5,26	1 14,28	0 0
- VPH - AR/16 y BR	3 15,78	2 28,57	1 8,33
- VPH - AR/16/18	0 0	0 0	0 0
- VPH – AR 18	0 0	0 0	0 0
- VPH - AR/18 y BR	0 0	0 0	0 0
- VPH – BR	2 10,52	1 14,28	1 8,33
• COLPOSCOPIA 0 MES	N, % (n = 19)	N, % (n = 7)	N, % (n = 12)
- Normal	0 0	0 0	0 0
- Cambios menores	14 73,18	6 85,71	8 66,66
- Cambios mayores	5 26,31	1 14,28	4 33,33
• CUADRANTES AFECTOS 0 MES	N, % (n = 19)	N, % (n = 7)	N, % (n = 12)
- 0	0 0	0 0	0 0
- 1	11 57,89	5 71,42	6 50
- 2	7 36,84	1 14,28	6 50
- 3	0 0	0 0	0 0
- 4	1 5,26	1 14,28	0 0
• CUADRANTES AFECTOS 12 MESES	N, % (n = 19)	N, % (n = 7)	N, % (n = 12)
- 0	2 10,52	1 14,28	1 8,33
- 1	9 47,36	3 42,85	6 50
- 2	7 36,84	3 42,85	4 33,33
- 3	1 5,26	0 0	1 8,33
- 4	0 0	0 0	0 0

Tabla 17. TABLA CURACIÓN. Características generales de las pacientes que curaron.

RESULTADOS

A modo de resumen, respecto a los tres grupos analizados anteriormente, en la siguiente tabla (Tabla 18), se comparan tres características al inicio del estudio:

- **Citología previa** al inicio del estudio, motivo de derivación para la realización de la colposcopia.
- Presencia de **virus del virus del papiloma humano**.
- Estado de la **colposcopia**.

Características 0 mes	Grupo PROGRESION N=22 (19,42%) N %		Grupo PERSISTENCIA N=60 (53,1%) N %		Grupo Curación N=19 (16,8%) N %		Población TOTAL De Estudio N= 113 (12 Abandonos)
Citología :							
- Bajo grado	14	12,38	50	44,24	16	14,15	
- Alto grado	8	7,07	10	8,84	3	2,65	
VPH – AR	19	16,81	41	36,28	12	10,61	
Colposcopia :							
- Normal	0	0	2	1,76	0	0	
- C. menores	16	14,15	41	36,28	14	12,38	
- C. Mayores	6	5,30	17	15,04	5	4,42	

Nota: los porcentajes están calculados sobre el total de pacientes que inician el estudio (113)

Tabla 18. Comparativa de los tres subgrupos, Progresión, Persistencia y Curación, respecto a la Citología al inicio, presencia de Infección viral VPH – AR en el momento 0 mes y estado de la Colposcopia realizada al inicio del estudio.

La **citología de bajo grado** fue más frecuente en el grupo de persistencia (44,24%). También en este grupo fue más frecuente la citología de alto grado (8,84%). Sin embargo, en el grupo de curación sólo estuvo presente en un 2,65%.

La presencia de **virus del papiloma humano de alto riesgo** fue más frecuente en el grupo de persistencia (36,28%). Fue el grupo de curación el que presentó la menor incidencia (10,61%).

La **colposcopia normal**, en el momento 0 mes, sólo se presentó en el grupo de persistencia. Los **cambios menores** también fueron más frecuente en este grupo (36,28%). Los **cambios mayores** se presentaron más frecuentemente en el grupo de persistencia y sólo aparecieron en un 4,42% en el grupo de curación.

RESULTADOS

Abandonaron el estudio 12 pacientes (10,61%), 5 pacientes a los 6 meses (4,42%) y 7 a los 12 meses (6,19%).

Los motivos de los abandonos se exponen en la tabla siguiente (Tabla 19): 5 pacientes por quedar embarazadas, 1 paciente por emigración y 6 mujeres por motivo desconocido, sin poder contactar con ellas, no respondiendo a nuestros avisos o llamadas.

ABANDONOS	TOTAL
• Total	12
- Embarazo	5
- Emigración	1
- Motivo desconocido	6

Tabla 19. Motivos de los abandonos ocurridos.

RESULTADOS

5.1.2.- Resultados VIRALES.

Se consideran **14 genotipos de VPH cancerígenos**, sobre la base de la evidencia **epidemiológica**: VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68(39-42).

Hemos realizado genotipado de 37 virus VPH: **16** genotipos de alto riesgo (VPH-AR) y **21** genotipos de bajo riesgo (VPH-BR).

Los genotipos de **alto riesgo** son los siguientes: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 66, 68 y 73.

Los genotipos de **bajo riesgo** son: 6, 11, 26, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 55, 62, 67, 70, 72, 81, 82, 83, 84, 89, GP6108 y IS39.

Debemos aclarar, que los genotipos de alto riesgo **61, 66 y 73** se han **reclasificados** últimamente a esta categoría, siendo considerados en un principio como genotipos de bajo riesgo.

En **16 casos no pudimos realizar genotipado** viral, solamente se determinó la presencia o no de virus del papiloma de alto riesgo, bajo riesgo o ausencia viral, sin poder detallar el genotipo. (9 casos corresponden al mes 0, 6 casos a los 12 meses y 1 a los 24 meses).

De los 113 pacientes de la población de inicio, **8 mujeres (7,07%), no presentaron ningún genotipo viral** en el momento 0, ni a los 12, ni 24 meses.

En la Tabla Global Virus (Tabla 20) exponemos las frecuencias de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, a los 0, 12 y 24 meses. También los relacionamos con el resultado final de progresión, persistencia o curación. En ambos casos los hemos subdividido en P16 (+) y P16 (-).

GENOTIPOS DE ALTO RIESGO:

- **Genotipo 16:** se detectó en 50 casos (genotipo más frecuente), 26 veces en pacientes P16 (+) y en 24 P16 (-). También se presentó en 24 casos que progresaron, 20 que persistieron y 6 que curaron. Aparecieron 22 casos en el momento 0, 22 casos a los 12 meses y 6 a los 24 meses.

RESULTADOS

- **Genotipo 18:** se detectó en 14 casos, 4 casos P16 (+) y 10 P16 (-). Además se presentaron en 4 casos que progresaron, 9 que persistieron y 1 que curó. Se detectó el genotipo 18 de forma simple, sin otros genotipos de alto y bajo riesgo, en 2 casos que persistieron. Sin embargo esto no ocurrió en los grupos de progresión y curación. Se presentaron 5 casos en el momento 0 mes, 6 casos a los 12 meses y 3 a los 24 meses.
- **Genotipo 31:** se detectó en 20 casos, 13 en mujeres P16 (+) y 7 en P16 (-). Por otra parte, aparecieron en 7 casos que progresaron, 11 que persistieron y 2 que curaron. En relación al tiempo de aparición, se detectaron 10 casos en el momento 0, 7 a los 12 meses y 3 a los 24 meses.
- **Genotipo 33:** se detectaron 9 casos, 5 en relación con P16 (+) y 4 con P16 (-). En 5 casos progresaron y en 4 persistieron, no encontrando este genotipo en los pacientes que curaron. En relación al momento de aparición, 5 casos se detectaron en el momento 0 mes, 2 a los 12 meses y 2 a los 24 meses.
- **Genotipo 35:** se detectaron 7 casos, 4 en pacientes P16 (+) y 3 en mujeres P16 (-). En progresión se detectaron 4 veces, en persistencia 2 y en curación 1. En el momento 0 se detectó 4 veces y 3 a los 12 meses, no detectándose a los 24 meses.
- **Genotipo 39:** se detectaron 10 casos, 4 en mujeres P16 (+) y 6 en P16 (-). En 2 casos progresaron, en 7 persistieron y en 1 caso curó. En el momento 0 mes detectamos 6 casos, a los 12 meses 2 casos y otros 2 a los 24 meses.
- **Genotipo 45:** se detectaron 9 casos, 2 en pacientes P16 (+) y 7 en P16 (-). En el grupo de progresión apareció 1 caso, en el de persistencia 8 y ninguno en el de curación. En el momento 0 mes detectamos 2 casos, a los 12 meses 3 y 4 a los 24 meses.
- **Genotipo 51:** detectamos 19 genotipos, de los cuales 6 pertenecían al grupo P16 (+) y 13 al grupo P16 (-). En el grupo de progresión aparecieron 5 casos, en el de persistencia 8 y 6 en el de curación. En el momento 0 mes detectamos 6 casos, 9 casos a los 12 meses y 4 a los 24 meses.
- **Genotipo 52:** hemos detectado 32 genotipos (2º en frecuencia), 14 casos en el grupo P16 (+) y 18 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión se registraron 10 casos, en el de persistencia 20 y en el de curación 2. Detectamos 15 casos en el momento 0 mes, 10 a los 12 meses y 7 a los 24.
- **Genotipo 56:** hemos hallado 16 genotipos, 4 en el grupo P16 (+) y 12 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 4 casos, en el de persistencia 9 y en el de

RESULTADOS

curación 3. En el momento 0 detectamos 8 casos, a los 12 meses 5 casos y 3 a los 24 meses.

- **Genotipo 58:** detectamos 23 casos (3º en frecuencia), 8 en el grupo P16 (+) y 15 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 8 casos, en el de persistencia 14 y en el de curación 1. En el momento 0 mes hallamos 13 genotipos, a los 12 meses 4 y a los 24 meses 6 casos.
- **Genotipo 59:** hemos detectado 14 genotipos, 6 en el grupo P16 (+) y 8 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 6 casos, en el de persistencia 7 y en el de curación 1. En el momento 0 mes detectamos 6 genotipos, a los 12 meses 4 y a los 24 meses otros 4.
- **Genotipo 61:** registramos 13 casos, 6 en el grupo P16 (+) y 7 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 4 genotipos, en el de persistencia 6 y en el de curación 3. En el momento 0 mes hallamos 4 casos, a los 12 meses 5 y a los 24 meses 4.
- **Genotipo 66:** detectamos 19 genotipos, 9 vinculados con el grupo P16 (+) y 10 con el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 3 casos, en el de persistencia 14 y en el de curación 2. En el momento 0 mes hallamos 10 casos, a los 12 meses 7 casos y 2 a los 24 meses.
- **Genotipo 68:** hallamos 10 casos, 3 en el grupo P16 (+) y 7 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 2 genotipos, en el de persistencia 8 y ninguno en el de curación. En el momento 0 mes detectamos 7 casos, a los 12 meses 1 y a los 24 meses 2.
- **Genotipo 73:** detectamos 4 genotipo, 3 en el grupo P16 (+) y 1 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 3 casos, en el de persistencia 1 caso y ninguno en el de curación. En el momento 0 mes detectamos 3 casos, a los 12 meses 1 y ninguno a los 24 meses.

RESULTADOS

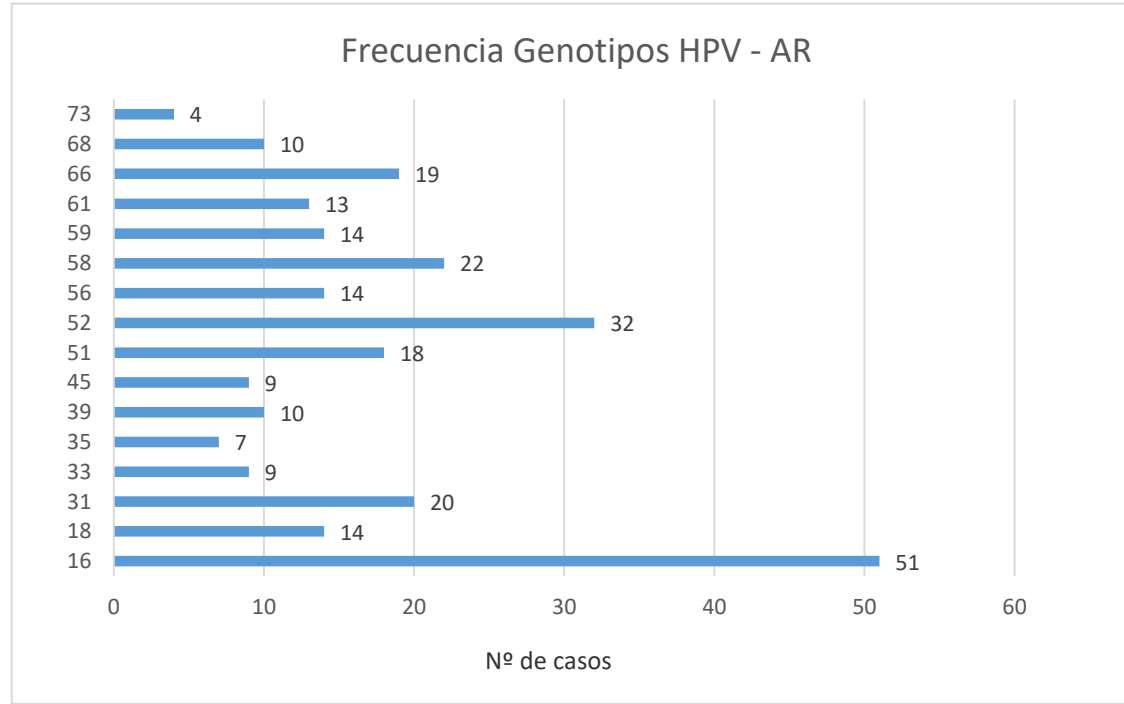


Gráfico 1. VIRUS ALTO RIESGO. Frecuencias de los genotipos VPH de alto riesgo.

Los genotipos más prevalentes (Gráfico 1), de forma global, por orden de frecuencia son: **16**, **52**, **58** y **31**.

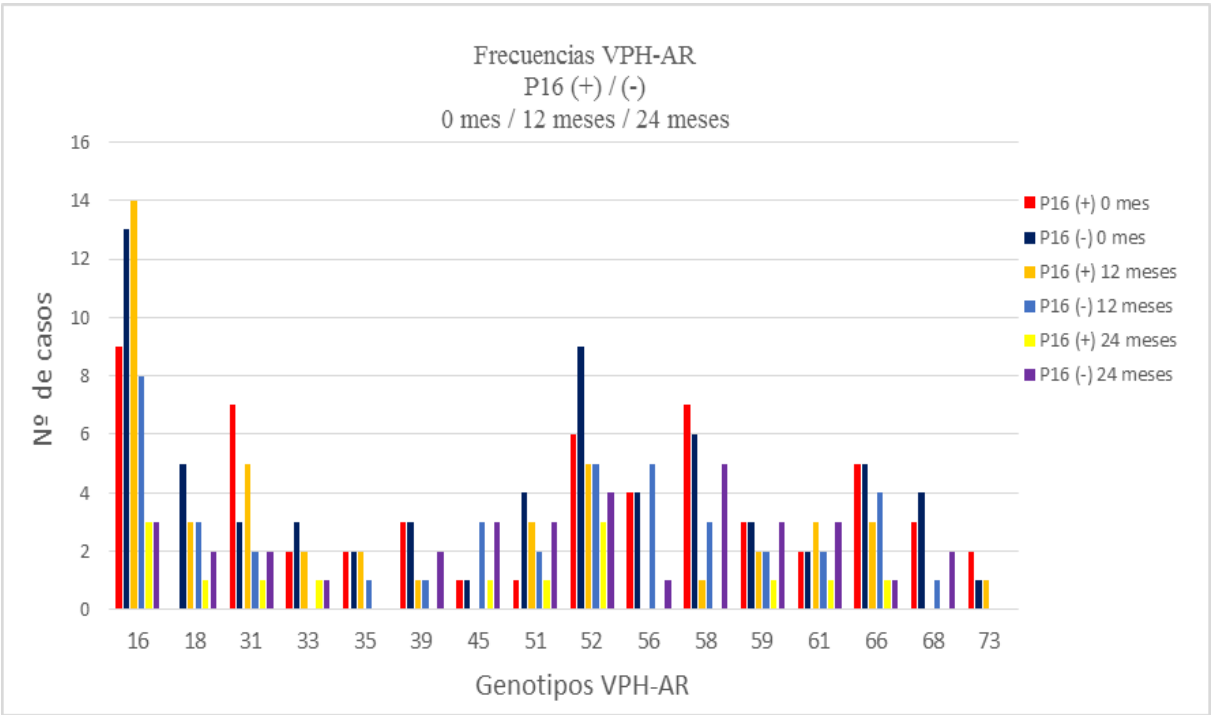


Gráfico 2. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a la expresión de la proteína P16 y al momento del estudio detectado.

RESULTADOS

En este gráfico 2, destaca el **genotipo 16** asociado al grupo P16 (+), detectado a los 12 meses de seguimiento.

El **genotipo 52** resalta al inicio del estudio, asociado al grupo P16 (-). Aunque cabe decir que el genotipo más prevalente, en el momento 0 mes, asociado a P16 (-), es el n° **16**.

El **genotipo 58**, sin embargo, es más frecuente al inicio, asociado al grupo P16 (+). El **genotipo 31** también destaca en el momento 0 mes, en el grupo P16 (+).

Los genotipos más persistentes a los 24 meses, por orden de frecuencia son: el n° **52**, el **16** y el **58**, conjuntamente.

RESULTADOS

GENOTIPOS DE BAJO RIESGO:

- **Genotipo 6:** detectamos 7 genotipos, 5 en el grupo P16 (+) y 2 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión se detectaron 6 casos, en el de persistencia 1 y ninguno en el de curación. En el momento 0 mes hallamos 2 casos, a los 12 meses otros 2 y a los 24 meses 3.
- **Genotipo 11:** hemos hallado 2 casos, uno en el grupo P16 (+) y otra en el grupo P16 (-). En el grupo de progresión no detectamos ningún caso, en el de persistencia 1 caso y en el de curación otro caso. Los dos casos se detectaron en el momento 0 mes y a los 24 meses.
- **Genotipo 26:** sólo hemos detectado un caso de este genotipo, en el grupo P16 (+), en el subgrupo de progresión y a los 12 meses.
- **Genotipo 40:** detectamos 3 genotipos, pertenecientes al grupo P16 (-). En el subgrupo de persistencia detectamos 2 casos y en el de curación uno. (Ninguno en el grupo de progresión). Un caso lo detectamos al inicio y 2 a los 24 meses.
- **Genotipo 42:** hallamos 21 casos, 4 en el grupo P16 (+) y 17 en el grupo P16 (-). En el grupo de progresión detectamos 8 casos, en el de persistencia 10 y en el de curación 3. Al inicio identificamos 6 genotipos, a los 12 meses 8 y a los 24 meses 7.
- **Genotipo 43:** no hemos detectado ningún caso.
- **Genotipo 44:** no hemos detectado ningún caso.
- **Genotipo 53:** identificamos 18 genotipos, 4 en el grupo P16 (+) y 14 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 2 casos, en el de persistencia 13 y en el de curación 3. Al inicio detectamos 5 casos, a los 12 meses 7 y a los 24 meses 6.
- **Genotipo 54:** detectamos 11 genotipos, 4 en el grupo P16 (+) y 7 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 5 genotipos, en el de persistencia 6 y ninguno en el de curación. En el momento 0 mes hallamos 6 genotipos, a los 12 meses 1 y 4 a los 24 meses.
- **Genotipo 55:** identificamos 3 casos, todos en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión hallamos 2 genotipos y en el de persistencia 1. Los 3 casos lo detectamos a los 12 meses.
- **Genotipo 62:** hallamos 14 casos de este genotipo, 6 en el grupo P16 (+) y 8 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 5 casos, en el de persistencia 8 y en el de curación 1. Al inicio aparecieron 5 genotipos, a los 12 meses 4 y a los 24 meses 5.

RESULTADOS

- **Genotipo 67:** obtuvimos 5 genotipos, 1 en el grupo P16 (+) y 4 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 1 caso y en el de persistencia 4. Al inicio identificamos 2 genotipos y a los 12 meses 3.
- **Genotipo 70:** no hemos detectado ningún caso.
- **Genotipo 72:** hallamos 2 casos, ambos pertenecientes al grupo P16 (-). Estos dos casos pertenecían al subgrupo de persistencia y se detectaron al inicio uno y a los 12 meses otro.
- **Genotipo 81:** identificamos 7 genotipos, 3 en el grupo P16 (+) y 4 en el P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 2 casos, en el de persistencia 4 y en el de curación 1. Al inicio hallamos 2 genotipos, a los 12 meses 4 y a los 24 meses 1.
- **Genotipo 82:** detectamos 4 casos, 2 pertenecientes al grupo P16 (+) y otros 2 al grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión identificamos 1 caso y en el de persistencia 3. Al inicio hallamos 3 casos y a los 12 meses 1.
- **Genotipo 83:** obtuvimos 8 genotipos, 4 en el grupo P16 (+) y otros 4 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 2 casos, en el de persistencia 4 y en el de curación 2. Al inicio hallamos 2 genotipos, a los 12 meses 3 y otros 3 a los 24 meses.
- **Genotipo 84:** identificamos 11 genotipos, 4 pertenecientes al grupo P16 (+) y 7 al grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión detectamos 3 casos, en el de persistencia 5 y en el de curación 3. Al inicio hallamos 4 casos, a los 12 meses 5 casos y a los 24 meses 2 genotipos.
- **Genotipo 89:** no hemos detectado ningún caso.
- **Genotipo 108:** hemos identificado un solo genotipo, perteneciente al grupo P16 (-) y al subgrupo de persistencia. Fue detectado al inicio del estudio.
- **Genotipo GP 6108:** detectamos 7 genotipos, 4 en el grupo P16 (+) y 3 en el grupo P16 (-). En el subgrupo de progresión identificamos 4 casos, en el de persistencia 1 y en el de curación 2. Al inicio hallamos 4 casos, a los 12 meses 2 y a los 24 meses 1.
- **Genotipo IS 39:** hallamos un solo caso de este genotipo, asociado al subgrupo P16 (+) y al subgrupo de persistencia. Además se identificó al inicio del estudio.

RESULTADOS

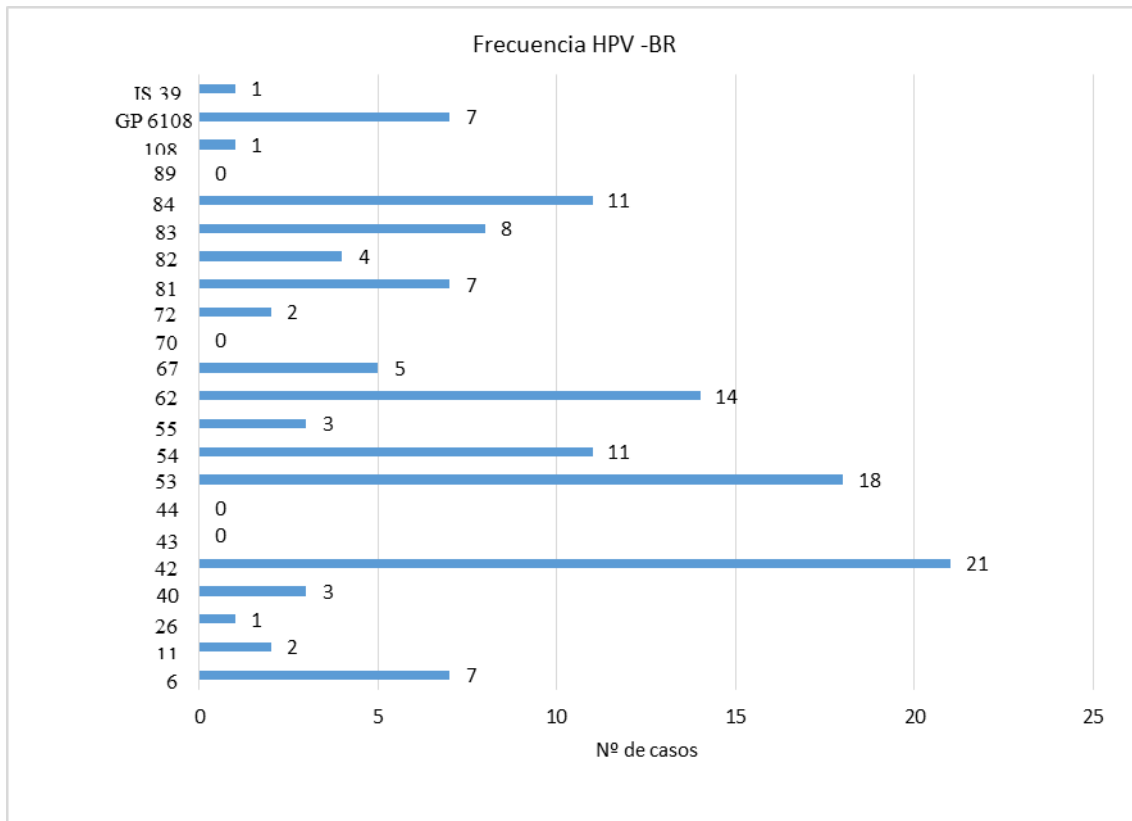


Gráfico 3. VIRUS BAJO RIESGO. Frecuencias de los genotipos VPH de bajo riesgo.

Destacamos los **virus del papiloma humano de bajo riesgo** más prevalentes, por orden de frecuencia, el genotipo **42, 53 y 62**.

RESULTADOS

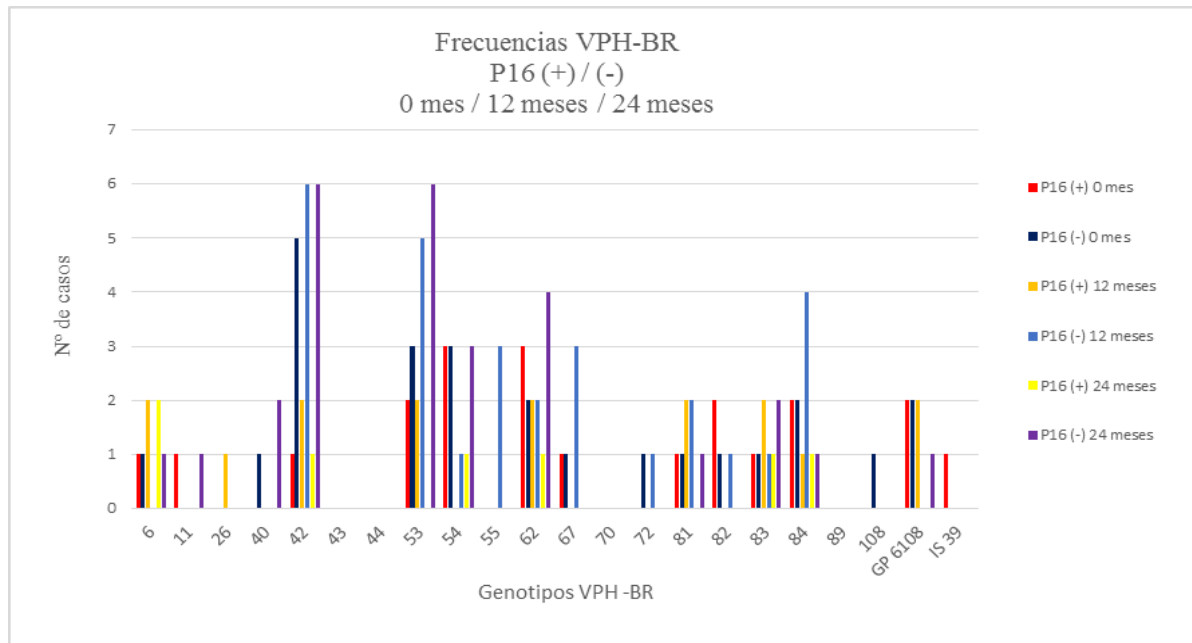


Gráfico 4. Frecuencia de los genotipos virales VPH de bajo riesgo, en relación a la expresión de la proteína P16 y al momento del estudio detectado.

El **genotipo 6** destaca su asociación al grupo P16 (+) a los 12 y 24 meses.

El **genotipo 42** (el más frecuente) destaca en el grupo P16 (-) al inicio y a los 12 y 24 meses.

El **genotipo 53**, que le sigue en frecuencia, también resalta en este grupo P16 (-) al inicio, 12 y 24 meses.

El **genotipo 62** (3º en frecuencia), presenta un pico en el grupo P16 (-) a los 24 meses.

El **genotipo 84** resalta un pico en el grupo P16 (-) a los 12 meses.

Ningún genotipo de bajo riesgo, solo en infección simple o múltiple, ocasiona sobre **expresión de la proteína P16 (+)**, salvo el **genotipo 42**, en el subgrupo de **persistencia**. Suelen aparecer acompañados de virus de alto riesgo, en infección múltiple, sobre expresando la proteína P16.

RESULTADOS

TABLA GLOBAL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

HPV-AR	P16 (+)	P16 (-)	TOTAL	Progresión	Persistencia	Curación
16	26	24	50	24	20	6
18	4	10	14	4	9	1
31	13	7	20	7	11	2
33	5	4	9	5	4	0
35	4	3	7	4	2	1
39	4	6	10	2	7	1
45	2	7	9	1	8	0
51	6	13	19	5	8	6
52	14	18	32	10	20	2
56	4	12	16	4	9	3
58	8	15	23	8	14	1
59	6	8	14	6	7	1
61	6	7	13	4	6	3
66	9	10	19	3	14	2
68	3	7	10	2	8	0
73	3	1	4	3	1	0
HPV-BR						
6	5	2	7	6	1	0
11	1	1	2	0	1	1
26	1	0	1	1	0	0
40	0	3	3	0	2	1
42	4	17	21	8	10	3
43	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
53	4	14	18	2	13	3
54	4	7	11	5	6	0
55	0	3	3	2	1	0
62	6	8	14	5	8	1
67	1	4	5	1	4	0
70	0	0	0	0	0	0
72	0	2	2	0	2	0
81	3	4	7	2	4	1
82	2	2	4	1	3	0
83	4	4	8	2	4	2
84	4	7	11	3	5	3
89	0	0	0	0	0	0
108	0	1	1	0	1	0
GP 6108	4	3	7	4	1	2
IS 39	1	0	1	0	1	0

Tabla 20. Frecuencia de los virus del papiloma humano de alto y bajo riesgo en los grupos P16 (+) y (-) y en los subgrupos de progresión, persistencia y curación.

RESULTADOS

En esta otra tabla general presentamos la distribución viral a lo largo del tiempo de estudio, en el momento 0 mes, 12 y 24 meses, y su asociación con la expresión de la proteína P16. Además, en las seis columnas de la derecha, con sombreado verde, relacionamos los genotipos virales con los subgrupos de progresión, persistencia y curación.

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes		Resultado Final					
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	Progresión		Persistencia		Curación	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	9	13	14	8	3	3	14	10	9	11	3	3
18	0	5	3	3	1	2	3	1	1	8	0	1
31	7	3	5	2	1	2	4	2	6	5	2	0
33	2	3	2	0	1	1	3	2	2	2	0	0
35	2	2	2	1	0	0	3	1	1	1	0	1
39	3	3	1	1	0	2	1	1	3	4	0	1
45	1	1	0	3	1	3	0	1	2	6	0	0
51	2	4	3	6	1	3	3	2	1	7	2	4
52	6	9	5	5	3	4	6	4	7	13	1	1
56	4	4	0	5	0	3	1	3	2	7	1	2
58	7	6	1	3	0	6	3	5	4	10	1	0
59	3	3	2	2	1	3	4	2	1	6	1	0
61	2	2	3	2	1	3	3	1	3	3	0	3
66	5	5	3	4	1	1	2	1	6	8	1	1
68	3	4	0	1	0	2	0	2	3	5	0	0
73	2	1	1	0	0	0	2	1	1	0	0	0
HPV- BR												
6	1	1	2	0	2	1	5	1	0	1	0	0
11	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
26	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
40	0	1	0	0	0	2	0	0	0	2	0	1
42	1	5	2	6	1	6	3	5	1	9	0	3
43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	2	3	2	5	0	6	2	0	2	11	0	3
54	3	3	0	1	1	3	4	1	0	6	0	0
55	0	0	0	3	0	0	1	1	0	1	0	0
62	3	2	2	2	1	4	3	2	2	6	1	0
67	1	1	0	3	0	0	0	1	1	3	0	0
70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0
81	1	1	2	2	0	1	2	0	1	3	0	1
82	2	1	0	1	0	0	0	1	2	1	0	0
83	1	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	1
84	2	2	1	4	1	1	2	1	0	3	0	3
89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
GP												
6108	2	2	2	0	0	1	2	2	1	0	1	1
IS 39	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Tabla 21. Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

5.1.2.1- Resultados virales: subgrupo Progresión.

Hemos analizado la frecuencia de los virus de alto y bajo riesgo en los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación. Además expresamos como se presentan a lo largo del tiempo de estudio (0 mes, 12 y 24 meses) y su relación con la proteína P16.

TABLA PROGRESIÓN: (22 casos progresaron).

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	1	8	10	2	3	0
18	0	1	2	0	1	0
31	1	2	3	0	0	0
33	1	2	2	0	0	0
35	1	1	2	0	0	0
39	0	1	1	0	0	0
45	0	1	0	0	0	0
51	0	2	3	0	0	0
52	1	4	4	0	1	0
56	1	1	0	1	0	1
58	2	3	1	1	0	1
59	1	2	2	0	1	0
61	1	1	2	0	0	0
66	0	1	2	0	0	0
68	0	2	0	0	0	0
73	1	1	1	0	0	0
HPV-BR						
6	1	1	2	0	2	0
11	0	0	0	0	0	0
26	0	0	1	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
42	0	4	2	1	1	0
43	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
53	0	0	2	0	0	0
54	3	1	0	0	1	0
55	0	0	1	1	0	0
62	0	1	2	1	1	0
67	0	0	0	1	0	0
70	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0
81	0	0	2	0	0	0
82	0	1	0	0	0	0
83	0	0	1	1	0	0
84	0	1	1	0	1	0
89	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0
GP 6108	1	2	1	0	0	0
IS 39	0	0	0	0	0	0

Tabla 22. TABLA PROGRESIÓN. Frecuencia de los genotipos de alto y bajo riesgo, en el Subgrupo de Progresión, en los momentos 0, 12 y 24 meses de seguimiento, y su relación con la expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

El genotipo de alto riesgo **16** destaca su presencia a los 12 meses, asociado al subgrupo de P16 (+). A los 24 meses, también es el más persistente, asociado al grupo P16 (+).

Como anécdota curiosa, detectamos 2 casos de progresión, que en el momento 0 mes sobre expresaban la proteína P16 sin presencia viral. A los 12 meses, en estos 2 casos, ya identificamos virus de alto riesgo con sobre expresión de la proteína P16.

Ningún virus de bajo riesgo solo, en infección simple, o en infecciones múltiples de virus de bajo riesgo, produjo sobre expresión de la proteína P16. Así, lo hemos identificados expresando la proteína P16 acompañados de virus de alto riesgo.

En el subgrupo de progresión, los virus de **alto riesgo** más frecuentes fueron el **16, 52 y 58** (por orden de aparición).

En este subgrupo de pacientes que progresaron, en el momento del diagnóstico del H-SIL histológico, en 9 casos (**41%**) no estaban presentes los genotipos 16, ni el 18. En los 13 casos restantes (59%) si estaban presentes los genotipos 16/18 (principalmente el 16).

Por otra parte, los virus de **bajo riesgo** más prevalentes en este subgrupo de progresión fueron el **42, 6 y 54** (por orden de frecuencia).

RESULTADOS

5.1.2.2- Resultados virales: subgrupo Persistencia.

En la siguiente tabla, número 23, exponemos los genotipos virales de alto y bajo riesgo, hallados durante el seguimiento del estudio, en los momentos 0 mes, 12 y 24 meses. Además reseñamos su relación con la expresión de la proteína P16.

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	5	4	4	4	0	3
18	0	4	1	2	0	2
31	4	1	1	2	1	2
33	1	1	0	0	1	1
35	1	0	0	1	0	0
39	3	1	0	1	0	2
45	1	0	0	3	1	3
51	0	0	0	4	1	3
52	4	4	1	5	2	4
56	2	2	0	3	0	2
58	4	3	0	2	0	5
59	1	1	0	2	0	3
61	1	1	1	1	1	1
66	4	3	1	3	1	2
68	3	2	0	1	0	2
73	1	0	0	0	0	0
HPV-BR						
6	0	0	0	0	0	1
11	1	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	2
42	1	1	0	3	0	5
43	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
53	2	2	0	4	0	5
54	0	2	0	1	0	3
55	0	0	0	1	0	0
62	2	1	0	1	0	4
67	1	1	0	2	0	0
70	0	0	0	0	0	0
72	0	1	0	1	0	0
81	1	0	0	2	0	1
82	2	0	0	1	0	0
83	0	1	1	0	1	1
84	0	2	0	2	0	1
89	0	0	0	0	0	0
108	0	1	0	0	0	0
GP 6108	0	0	1	0	0	0
IS 39	1	0	0	0	0	0

Tabla 23. TABLA PERSISTENCIA: (60 casos persistieron: 20 Persistencia L-SIL; 40 Persistencia otros).

Frecuencia de los genotipos de alto y bajo riesgo, en el Subgrupo de Persistencia, en los momentos 0, 12 y 24 meses de seguimiento, y su relación con la expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

Los genotipos de **alto riesgo** más frecuentes, en este subgrupo, son el **16**, junto al **52**, seguidos por los genotipos **58** junto al **66**.

En el subgrupo de persistencia destacan los genotipos de **bajo riesgo 53, 42 y 62** (por orden de frecuencia).

Los genotipos de bajo riesgo **81 y 84**, ambos en la misma paciente, como infección múltiple o coinfección, **sobre expresaban la proteína P16**.

Por otra parte, el genotipo de bajo riesgo **42**, ocasionando infección simple, presentó **sobre expresión de la proteína P16**.

RESULTADOS

5.1.2.3- Resultados virales: subgrupo Curación.

En la siguiente tabla, número 24, exponemos los genotipos virales de alto y bajo riesgo, hallados durante el seguimiento del estudio, en los momentos 0 mes, 12 y 24 meses. Además reseñamos su relación con la expresión de la proteína P16.

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	3	1	0	2	0	0
18	0	0	0	1	0	0
31	1	0	1	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0
35	0	1	0	0	0	0
39	0	1	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0
51	2	2	0	2	0	0
52	1	1	0	0	0	0
56	1	1	0	1	0	0
58	1	0	0	0	0	0
59	1	0	0	0	0	0
61	0	0	0	1	0	2*
66	1	0	0	1	0	0
68	0	0	0	0	0	0
73	0	0	0	0	0	0
HPV-BR						
6	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	1
26	0	0	0	0	0	0
40	0	1	0	0	0	0
42	0	0	0	2	0	1
43	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
53	0	1	0	1	0	1
54	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0
62	1	0	0	0	0	0
67	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0
81	0	1	0	0	0	0
82	0	0	0	0	0	0
83	1	0	0	0	0	1
84	0	1	0	2	0	0
89	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0
GP 6108	1	0	0	0	0	1
IS 39	0	0	0	0	0	0

Tabla 24. TABLA CURACIÓN: (19 casos curaron). Frecuencia de los genotipos de alto y bajo riesgo, en el Subgrupo de Curación, en los momentos 0, 12 y 24 meses de seguimiento, y su relación con la expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

Ningún virus de BR solo (un solo virus de BR o varios virus de BR), ocasiona P16 (+). Aparecen acompañados de virus de alto riesgo, en los casos de lesiones P16 (+).

A los 24 meses, los 19 casos curados presentaron P16 (-) y en 5 de ellos aparecieron HPV-BR. En dos casos presentaron virus **genotipo 61**. Este genotipo fue considerado en un principio como bajo riesgo. Después se reclasificó de alto riesgo. Estos dos casos de curación han continuado en seguimiento.

Destacamos 3 casos con **genotipos 16** que sobre expresan la proteína P16, en el momento 0 mes, y desarrollan curación a los 24 meses.

Llama la atención el **genotipo 31** que sobre expresa la proteína P16 en el momento 0 mes y a los 12 meses y después cura. Sólo es este genotipo el que sobre expresa la proteína P16 a los 12 meses. Los otros genotipos de alto riesgos presentes a los 12 meses no sobre expresan la proteína P16.

Ningún genotipo de **bajo riesgo**, solo en infección simple o múltiple, ocasiona P16 (+). Aparecen acompañados de virus de alto riesgo, en infección múltiple, sobre expresando la proteína P16.

A los **24 meses**, detectamos en este subgrupo de curación, 5 genotipos de bajo riesgo: **11, 42, 53, 83 y GP 6108**, y el reclasificado a posteriori como alto riesgo, el **61**.

RESULTADOS

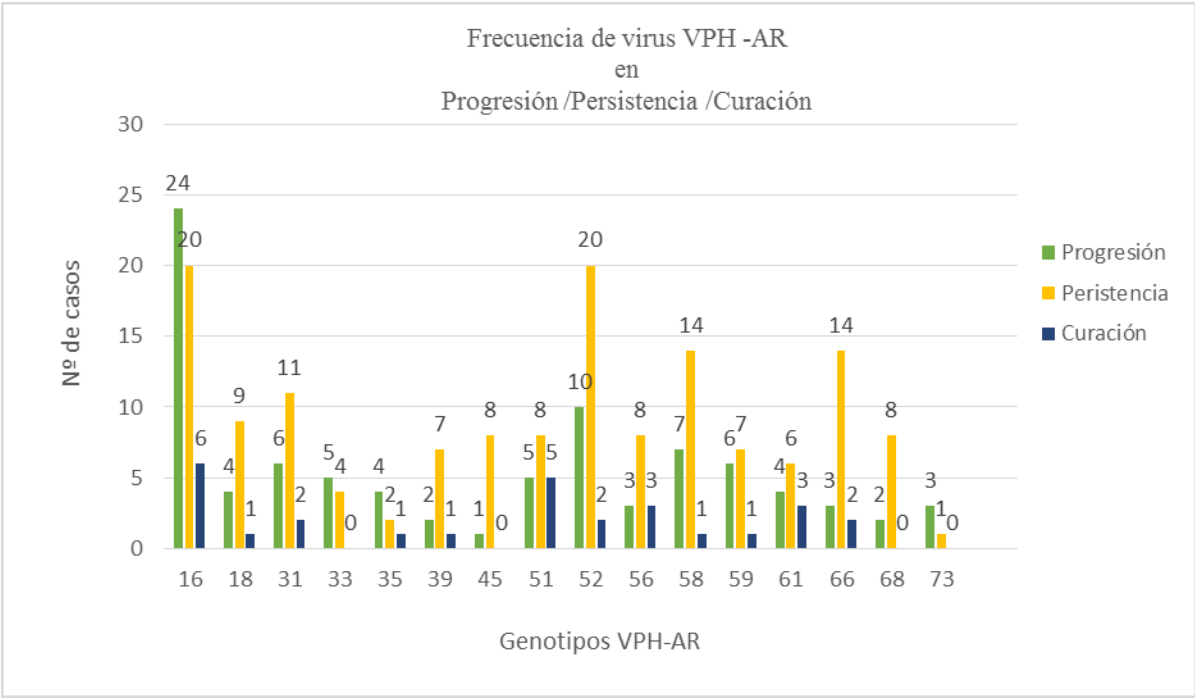


Gráfico 5. Genotipos virales VPH-Alto Riesgo en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

A modo de **RESUMEN**, entre los genotipos de **Alto Riesgo**:

El **genotipo 16** destaca en los subgrupos de progresión, persistencia y curación.

Después le siguen los genotipos **52** y **58** junto al **66** (por orden de frecuencia), sobre todo en el subgrupo de persistencia.

RESULTADOS

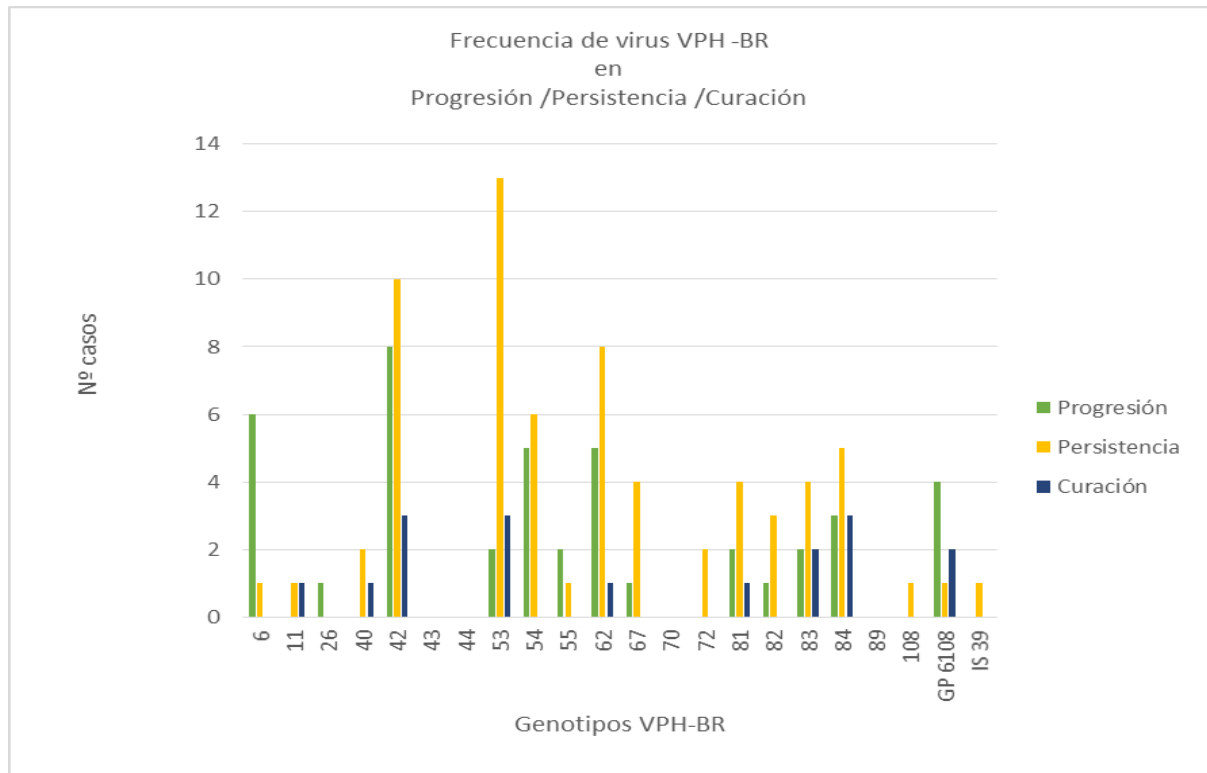


Gráfico 6. Genotipos virales VPH- Bajo Riesgo en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

Como **RESUMEN**, entre los genotipos de **Bajo Riesgo**, podemos decir:

En el subgrupo de progresión resalta el genotipo **42**, siguiéndole en frecuencia los genotipos **6** y **54** junto al **62**.

En el subgrupo de persistencia destacan los genotipos **53**, **42** y **62** (por orden de frecuencia).

En el subgrupo de curación aparecen más presentes los genotipos **42**, **53** y **84**.

RESULTADOS

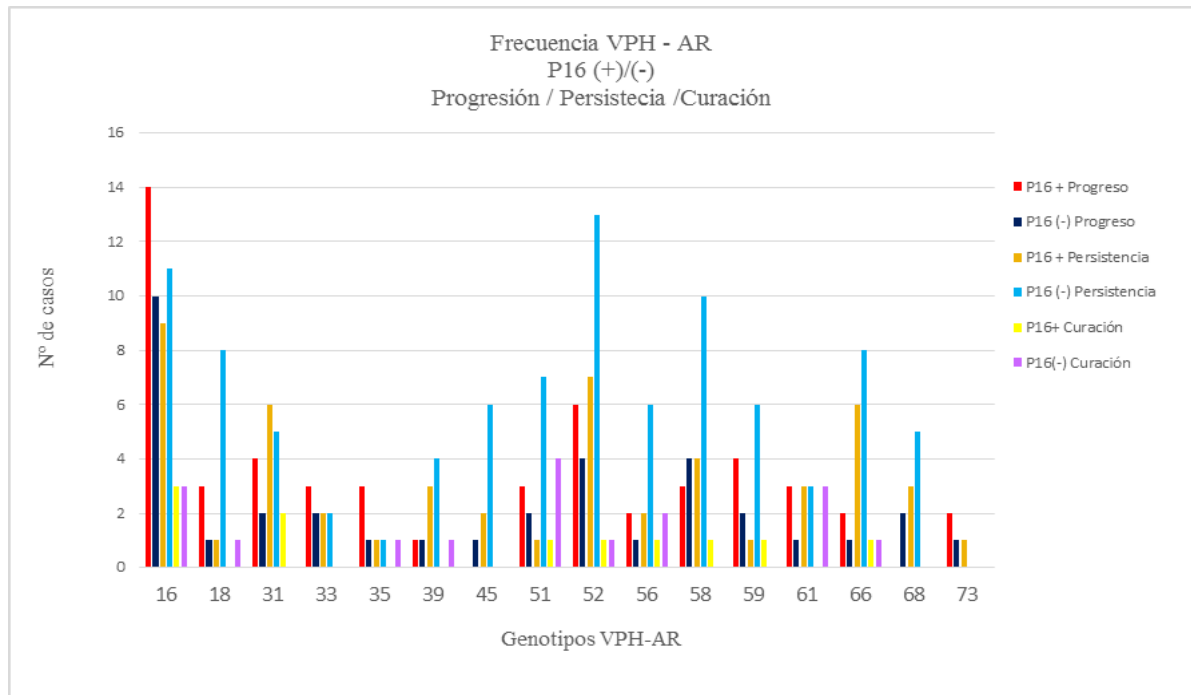


Gráfico 7. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, y a su expresión de la proteína P16.

Si tenemos en cuenta además la **SOBRE EXPRESIÓN** de la **PROTEINA P16**, podemos añadir:

Genotipos de **ALTO RIESGO**:

Destaca el genotipo de alto riesgo **16** asociado al subgrupo de **progresión P16 (+)**. Le sigue en frecuencia el genotipo **52**, en el subgrupo de progresión P16 (+).

Por otra parte, resaltan los genotipos de alto riesgo **52**, **16**, **58** y **18** junto al **66** (por orden de frecuencia), en el subgrupo de **persistencia asociados a P16 (-)**.

RESULTADOS

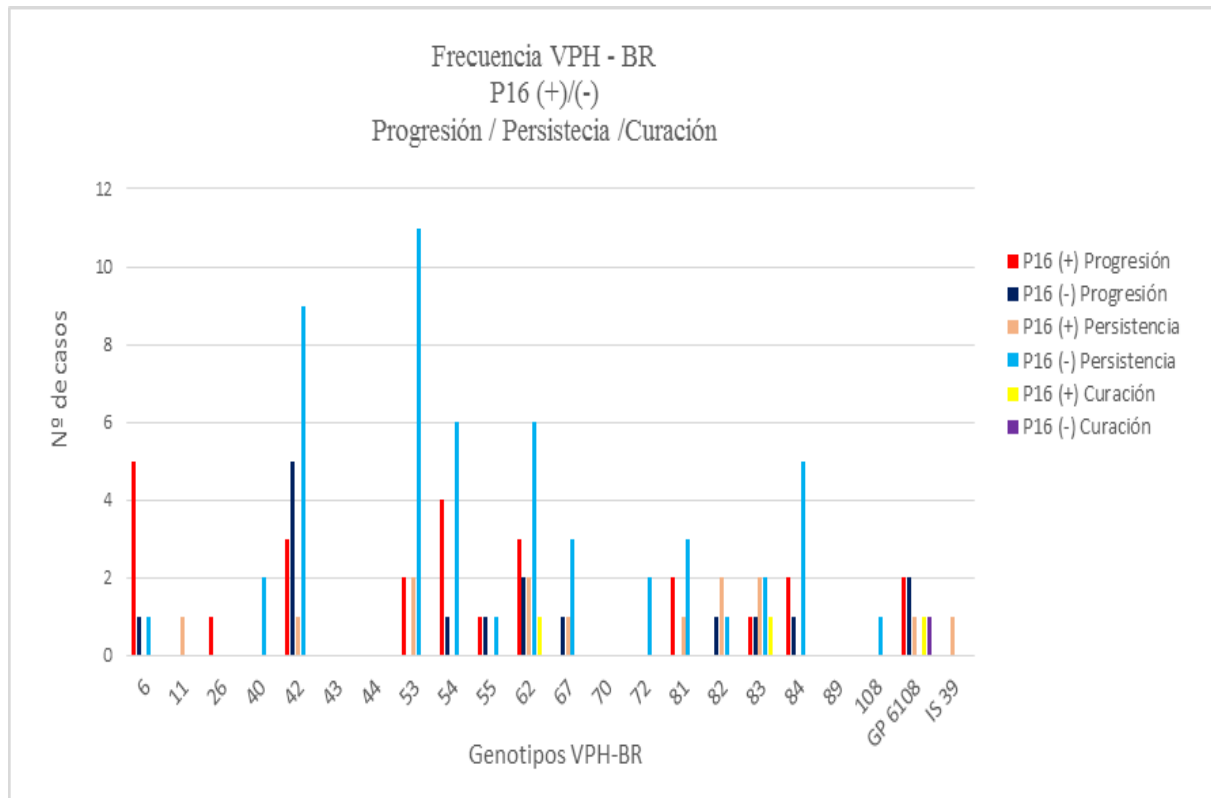


Gráfico 8. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, y a su expresión de la proteína P16.

Genotipos de **BAJO RIESGO**:

Destaca el genotipo **6** en el subgrupo de progresión asociado a la sobre expresión de la proteína P16 (+). Le sigue en frecuencia el genotipo **54**, del subgrupo de progresión asociado a la sobre expresión de P16 (+).

Por otro lado, en el subgrupo de persistencia P16 (-) resaltan los genotipos **53**, **42** y **54** junto al **62** (por orden de frecuencia).

RESULTADOS

5.1.2.4- Resultados virales: subgrupo Edad.

En este apartado hemos dividido las frecuencias virales por grupos de edades:

- Población < 25 años.
- Población 25 – 30 años.
- Población > 30 años.

Además hemos subclasificado a los genotipos virales según el tiempo de aparición (0 mes, 12 meses y 24 meses) y el resultado final de estudio (Progresión, Persistencia o Curación). Todo ello lo hemos relacionado con la sobre expresión de la proteína P16.

A continuación exponemos las tablas y figuras de este análisis:

POBLACIÓN (< 25 años). (19 casos; 2 Progresiones (10,52%); 2 Abandonos (10,52%).

Destacar que ningún virus de alto riesgo, a los 24 meses, sobre expresa la proteína P16.

▪ **POBLACIÓN (25 - 30 años). (26 casos; 4 Progresiones (13,18%); 1 Abandono (3,84%).** Este caso de abandono no se genotipó.

▪ **POBLACIÓN (> 30 años). (68 casos; 17 Progresiones (25%); 9 Abandonos (13,23%).**

RESULTADOS

TABLA POBLACIÓN (< 25 años). (19 casos; 2 Progresiones (10,52%); 2 Abandonos (10,52%)). **I** = Abandonos.

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes		Resultado Final					
							Progresión		Persistencia		Curación	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	2	1	3	2			1	1	3	2	1	
18		1	1	1		1	1			3		
31	I 2								1		1	
33	1								1			
35	1						1					
39			1				1					
45		1						1				
51	I 1	1	1	1		1	1		1	2		1
52	2								1		1	
56	1										1	
58	1	I 1	1				2					
59						2				2		
61	1		1						2			
66	1			1					1	1		
68						1				1		
73	1		1			2			2	2		
HPV- BR	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
6				1						1		
11												
26												
40						1				1		
42	1	I 1		3		3			1	4		2
43												
44												
53	I 1			1		1						2
54	2						1		1			
55												
62												
67												
70												
72												
81												
82												
83	1					1					1	1
84		1		2				1		1		1
89												
108												
GP												
6108	1										1	
IS 39												

Tabla 25. Grupo de pacientes < 25 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.

Destacar que ningún virus de alto riesgo, a los 24 meses, sobre expresa la proteína P16.

RESULTADOS

TABLA POBLACIÓN (25 - 30 años). (26 casos; 4 Progresiones (13,18%); 1 Abandono* (3,84%).

*(Este caso de abandono no se genotipó).

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes		Resultado Final					
							Progresión		Persistencia		Curación	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	3	5	4	3	1	1	5	2	2	6	1	1
18		3	2	2	1	1	2	1	1	4		1
31	1		1				1		1			
33		1				1				2		
35	1	1	1				1		1			1
39	1	2		1		1		1	1	2		1
45												
51	2	4	1	2			1	2	1	3	1	1
52	1	4	2	1	1	2	4	1		6		
56	2	2		1			1		1	1		2
58	2	1				1	1		1	2		
59	1	1		1	1	1	1	1	1	2		
61	1	1		1		2	1	1				3
66	2	1		4		1			1	5	1	1
68		2						1		1		
73	1			1		1	1			2		
HPV- BR												
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
6	2	1	1		1		4	1				
11	1					1			1			1
26			1				1					
40		1				1				1		1
42		2	1	2	1	1	2	1		3		1
43												
44												
53		1		1		1				2		1
54	1				1		2					
55				1						1		
62	2	1	2				2	1	1		1	
67												
70												
72												
81			1	1			1			1		
82												
83			1						1			
84	1		1			1	1		1	1		
89												
108												
GP												
6108	1	1	1			1	2	1				1
IS 39												

Tabla 26. Grupo de pacientes de 25 – 30 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

TABLA POBLACIÓN (> 30 años). (68 casos; 17 Progresiones (25%); 9 Abandonos (13,23%).)

HPV- AR	0 mes		12 mes		24 mes		Resultado Final					
							Progresión		Persistencia		Curación	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
16	I 4	7	7	3	2	2	8	7	3	3	1	2
18												
31	4	3	4	2	1	2	3	2	5	5	1	
33	1	2	2		1		3	2	1			
35		1	1	1			1	1		1		
39	2			1		1			2	2		
45	1			3	1	3			2	6		
51	3	3	2	3		2	1		3	6	1	2
52	3	5	3	4	2	2	2	3	6	7		1
56	1	2		4		3		3	1	6		
58	3	3		4		4		5	3	6		
59	2	1	2			1	3	1		1	1	
61	1	1	1	1	1	1	2		1	3		
66	3	I 4	2		1		2	1	4	2		
68	2	2	1	1		1		1	3	3		
73	1	3	1	2		1	1	1	1	5		
HPV- BR	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
6					1	1	1			1		
11												
26												
40												
42		3	1	1		2	1	4		2		
43												
44												
53	2	I 3	2	I 4		3	2		2	8		
54	1	I 5				2	1	1		6		
55			1	1			1	1				
62	1	1		2	1	4	1	1	1	6		
67	I 2	1		3				1	1	3		
70												
72				1						1		
81	I 2	1	1	I 2		1	1		1	2		1
82	2	1		1				1	2	1		
83		1	1	1	1	1		1	2	2		
84	1	1		2	1		1		1	1		2
89												
108		1								1		
GP 6108		1	1					1	1			
IS 39	1								1			

I = Abandonos.

Tabla 27. Grupo de pacientes > 30 años: Distribución de los genotipos virales de alto y bajo riesgo, en los momentos 0, 12 y 24 meses; en los subgrupos de progresión, persistencia y curación y su relación con la sobre expresión de la proteína P16.

RESULTADOS

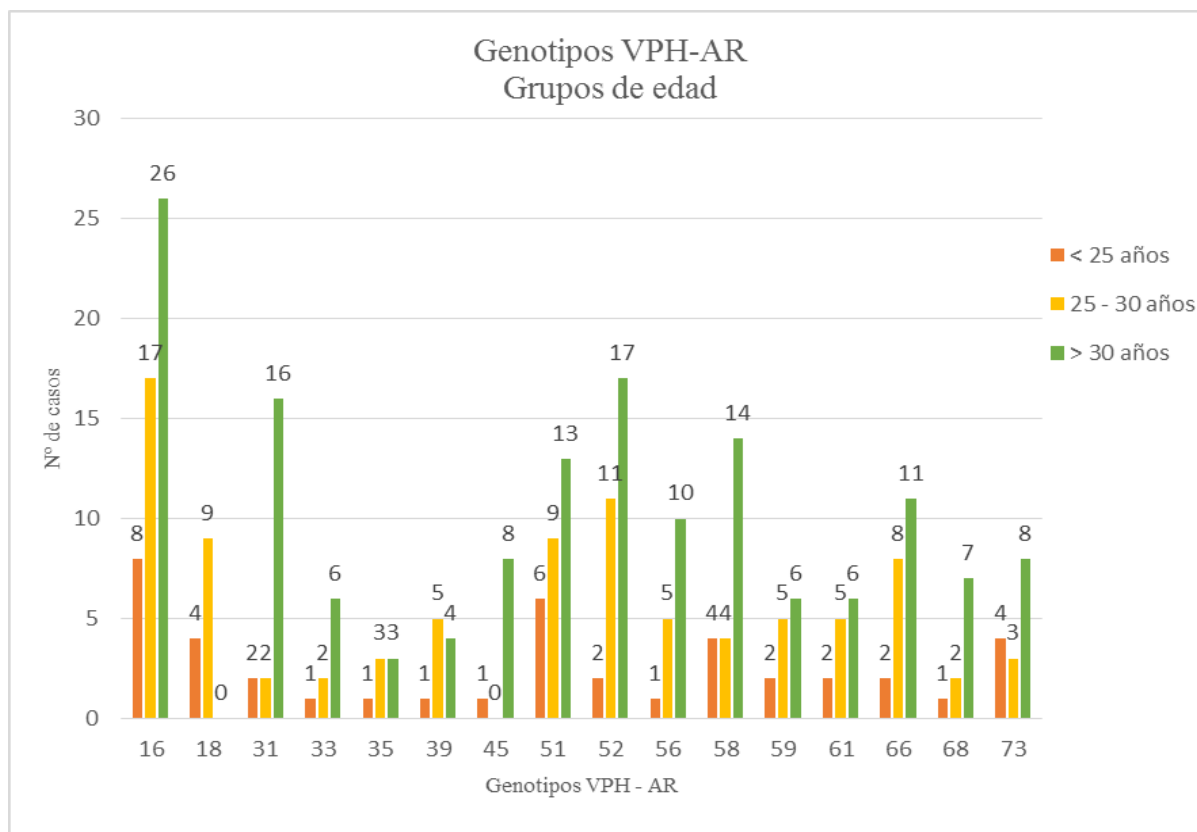


Gráfico 9. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los 3 subgrupos de edad.

Genotipos de **ALTO RIESGO**:

Destaca el genotipo de alto riesgo **16** en el grupo de paciente mayores de 30 años. Le sigue en frecuencia, en este grupo de edad, los genotipos **52**, **31** y **58**.

También resalta que **no se detectaron genotipos 18** en el subgrupo de población mayores de 30 años.

En el subgrupo de edad comprendido entre los 25 y 30 años, predomina también el genotipo **16**, seguido en orden de frecuencia por los genotipos **52** y **51**.

Además, en el subgrupo de edad de pacientes menores de 25 años, el genotipo más frecuente es el **16**, seguido, en este caso, del genotipo **51**.

Por tanto, podemos concluir, que el Genotipo 16 es el más prevalente en los tres grupos de edad.

RESULTADOS

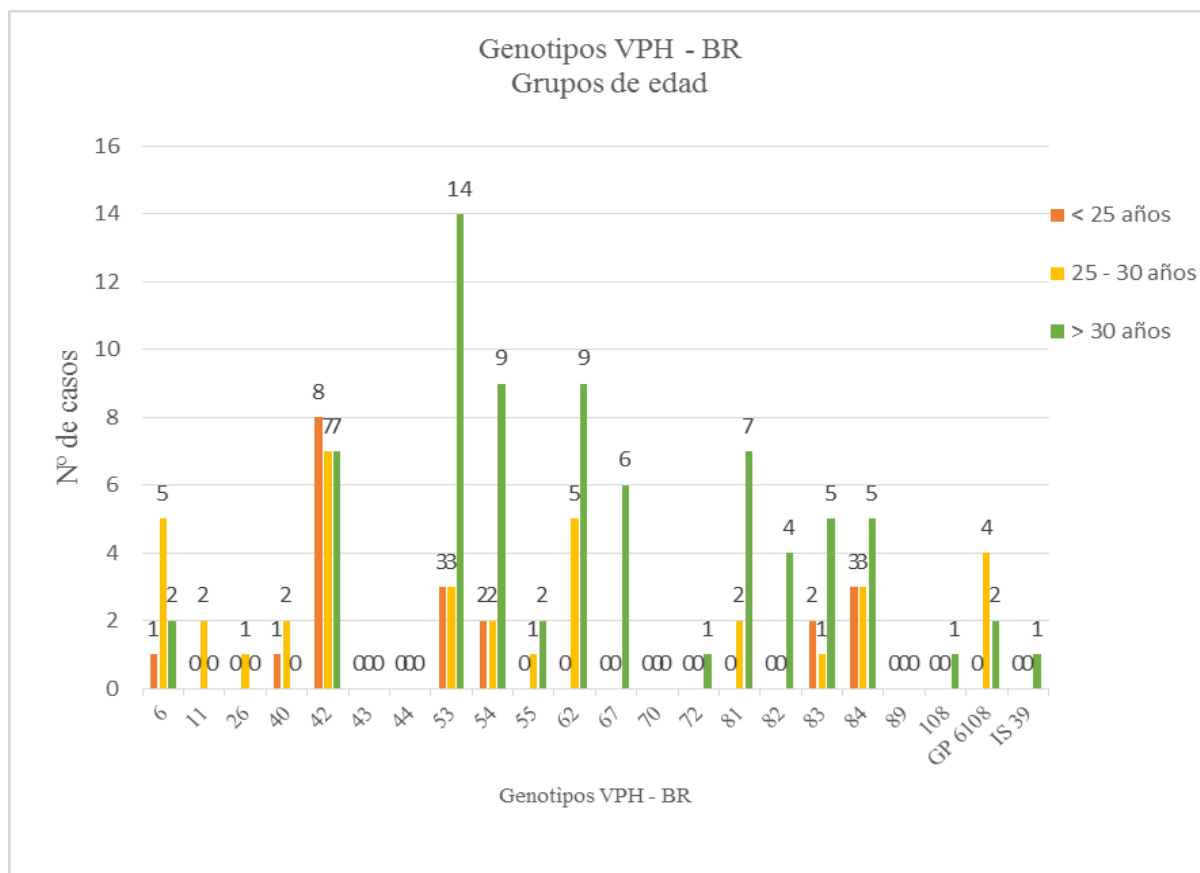


Gráfico 10. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los 3 subgrupos de edad.

Genotipos de **BAJO RIESGO**:

En el subgrupo de edad de mayores de 30 años, destacan los genotipos **53** y **54** junto al **62**.

El genotipo **6** es más frecuente en el subgrupo de edad de pacientes con edades comprendidas entre los 25 y 30 años. Sin embargo, en este grupo de edad, el genotipo de bajo riesgo más prevalente es el **42**.

En pacientes menores de 25 años destaca el genotipo **42**.

RESULTADOS

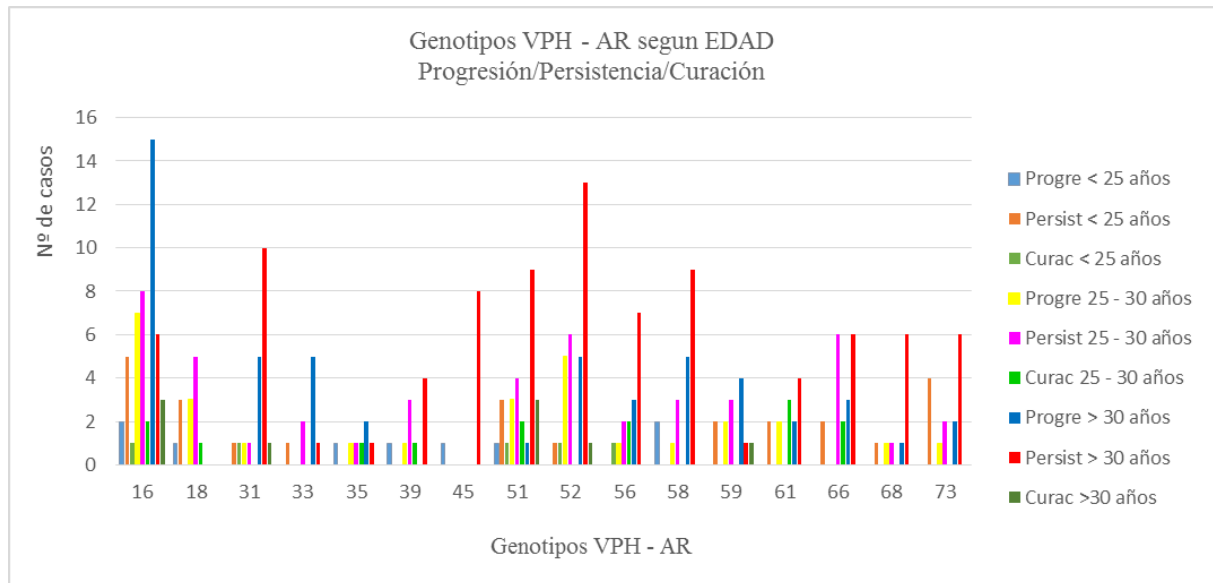


Gráfico 11. Frecuencia de los genotipos virales VPH-AR en relación a los 3 subgrupos de edad y estado final de Progresión, Persistencia o Curación.

Genotipos de **ALTO RIESGO**:

El genotipo de alto riesgo **16**, resalta en el grupo de pacientes de **≥ 30 años** que **progresaron**.

Por otro lado, en el grupo de pacientes de **≥ 30 años** que **persisten** destacan los genotipos **52**, **31** y **51** junto al **58** (por orden de frecuencia).

RESULTADOS

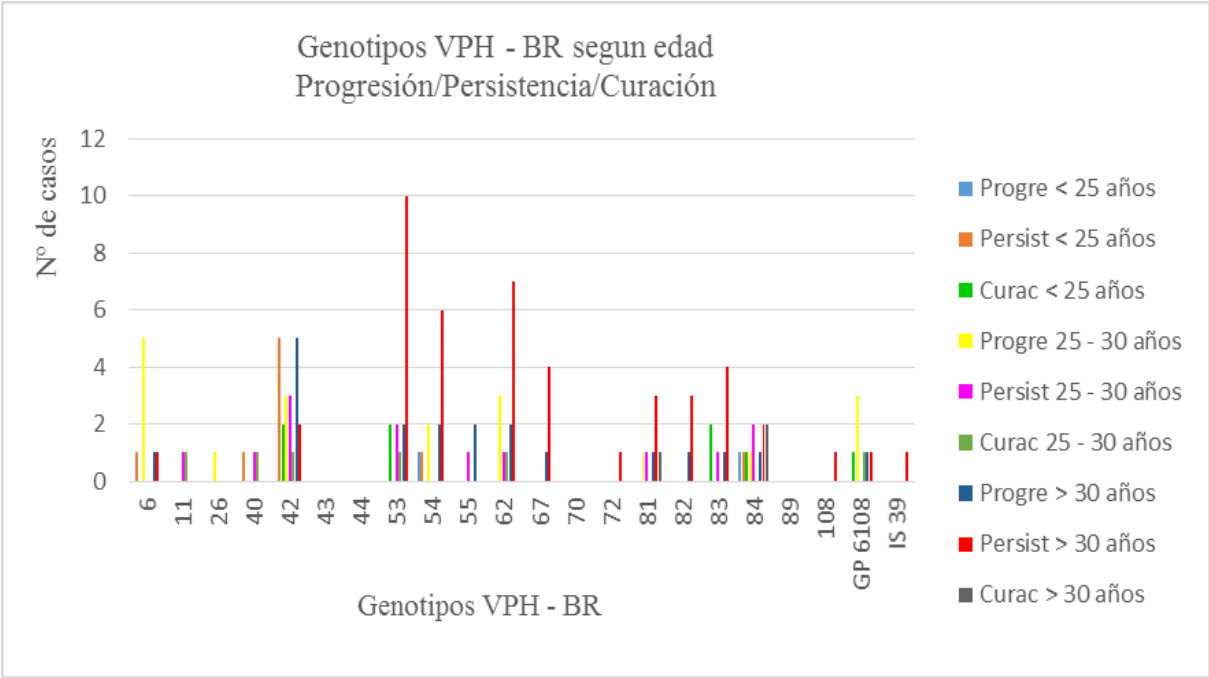


Gráfico 12. Frecuencia de los genotipos virales VPH-BR en relación a los 3 subgrupos de edad y estado final de Progresión, Persistencia o Curación.

Genotipos de **BAJO RIESGO**:

El genotipo **6** resalta en el grupo de edad entre 25-30 años, asociado al subgrupo de **progresión**.

En el subgrupo de **persistencia**, en pacientes del grupo de edad > de 30 años, destacan los genotipos de bajo riesgo **53, 62 y 54**.

RESULTADOS

5.1.2.5- Estudio de Infecciones Simples.

En esta sección hemos estudiado las infecciones simples, producidas por un solo virus (Tabla 28).

Las hemos subdividido en 3 grupos según el resultado final, Progresión, Persistencia y Curación, y respecto al momento de aparición en el seguimiento del estudio (momento 0 mes, 12 meses y 24 meses). Entre paréntesis añadimos el signo (+) o (-), que significa si sobre expresaba P16 (+) o no (-).

En el momento 0 mes, genotipamos 104 pacientes (9 casos no se genotiparon, es decir, sólo se determinó si existía infección por virus de alto riesgo, bajo riesgo o ausencia de infección viral). Así de detectaron **25 infecciones simples** (24,03%):

- 6 casos de infecciones por virus de alto riesgo, que al final progresaron.
- 14 casos que persistieron, 10 eran virus de alto riesgo y 4 bajo riesgo.
- 5 casos por virus de alto riesgo que curaron a los 24 meses.

A los 12 meses de seguimiento, genotipamos 98 pacientes (6 casos no genotipados), de los cuales 24 mujeres presentaron **infección simple** (24,48%):

- 6 pacientes con genotipos de alto riesgo, pertenecientes al subgrupo de progresión.
- 15 casos del grupo de persistencia, 9 eran virus de alto riesgo y 6 de bajo riesgo.
- 3 mujeres que curaron, 2 eran virus de alto riesgo y 1 de bajo riesgo.

A los 24 meses, genotipamos 82 casos (1 caso no genotipado), de ellos, 23 pacientes presentaron una **infección viral simple** (28,04%):

- 1 mujer con genotipo de alto riesgo, integrada en el grupo de progresión.
- 19 pacientes del grupo de persistencia: 11 casos con virus de alto riesgo y 8 con virus de bajo riesgo.
- 3 mujeres que curaron, estaban infectadas por virus de bajo riesgo.

En el subgrupo de Progresión, tanto al inicio, 12 meses y 24 meses, destaca el **genotipo 16**. Le siguen en frecuencia los genotipos **31, 33 y 51**. No obtuvimos ninguna infección viral simple por el genotipo 18.

RESULTADOS

A los 12 meses, todos los genotipos virales de alto riesgo, en infección simple, sobre expresaban la proteína P16. Detectamos 6 infecciones simples, 3 por genotipos 16, 2 por genotipos 31 y 1 por genotipo 33.

A los 24 meses, sólo detectamos una infección simple por genotipo 16, que sobre expresaba la proteína P16.

No tuvimos ninguna infección simple por virus de bajo riesgo que progresara.

En el subgrupo de Persistencia destacan los genotipos virales de alto riesgo, al inicio, 16 y 31.

A los 12 meses resalta el genotipo de alto riesgo 52.

A los 24 meses, destacan los genotipos de alto riesgo 45 y 58.

Hemos detectado 2 infecciones simples por virus de bajo riesgo que sobre expresaban la proteína P16. Estos genotipos virales son el **42**, en el momento 0 mes, y el 61 a los 24 meses. (Este último virus se reclasificó en virus de alto riesgo).

En el subgrupo de Curación apreciamos una infección simple por virus de alto riesgo genotipo 16, en el momento 0 mes, que sobre expresa la proteína P16. También destacar que el genotipo de alto riesgo más frecuente en infección simple detectado el inicio del estudio es el 51, Uno sobre expresa la proteína P16 y otro no.

A los 12 meses aparece una infección simple por un genotipo de alto riesgo 16 P16 (-) que en el momento 0 mes presentaba una infección viral múltiple VPH-AR y BR: AR: 16 y BR: 81, 84.

A los 24 meses detectamos tres infecciones simples por los virus de bajo riesgo 83, GP 6108 y 61. Las tres infecciones no sobre expresaban la proteína P16.

RESULTADOS

Infecciones simples	<u>0 mes</u>		<u>12 meses</u>		<u>24 meses</u>	
	<u>AR</u>	<u>BR</u>	<u>AR</u>	<u>BR</u>	<u>AR</u>	<u>BR</u>
<u>Progresión</u>	<u>16(-)</u>		<u>16(+)[®]</u>		<u>16(+)^Ω</u>	
	<u>16(-)</u>		<u>16(+)[⌘]</u>			
	<u>16(-)</u>		<u>16(+)[∞]</u>			
	<u>31(+)</u>		<u>31(+)[£]</u>			
	<u>33(-)</u>		<u>31(+)[¥]</u>			
	<u>51(-)</u>		<u>33(+)^μ</u>			
<u>Persistencia</u>	<u>16(+)</u>	<u>42(+)</u>	<u>16(+)^π</u>	<u>42(-)</u>	<u>16(-)^e</u>	<u>42(-)</u>
	<u>16(+)</u>	<u>66(-)</u>	<u>18(+)^α</u>	<u>62(-)</u>	<u>31(-)^Ξ</u>	<u>42(-)</u>
	<u>18(+)</u>	<u>66(-)</u>	<u>31(-)^φ</u>	<u>66(-)</u>	<u>33(-)^Γ</u>	<u>53(-)</u>
	<u>31(-)</u>	<u>83(-)</u>	<u>45(-)^p</u>	<u>72(-)</u>	<u>39(-)^Й</u>	<u>54(-)</u>
	<u>31(+)</u>		<u>51(-)^щ</u>	<u>73(-)</u>	<u>45(-)^{Јb}</u>	<u>61(+)</u>
	<u>39(+)</u>		<u>52(-)^ċ</u>	<u>84(-)</u>	<u>45(-)^Ю</u>	<u>73(-)</u>
	<u>51(+)</u>		<u>52(-)^C</u>		<u>52(+)th</u>	<u>73(-)</u>
	<u>56(-)</u>		<u>56(-)^χ</u>		<u>58(-)^Ђ</u>	<u>83(-)</u>
	<u>58(+)</u>		<u>59(-)^ž</u>		<u>58(-)^Ї</u>	
	<u>68(-)</u>				<u>59(-)^φ</u>	
					<u>68(-)^Я</u>	
<u>Curación</u>	<u>16(+)</u>		<u>31(+)^Z</u>	<u>42(-)</u>		<u>83(-)^V</u>
	<u>56(-)</u>		<u>16(-)^Ђ</u>			<u>GP 6108(-)^Ѓ</u>
	<u>51(-)</u>					<u>61(-)^Ѓ</u>
	<u>51(+)</u>					
	<u>59(+)</u>					

Tabla 28. Genotipos virales de Alto y Bajo riesgo presentes en infecciones simples, en los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, a los 0, 12 y 24 meses. Entre paréntesis de especifica con un signo (+) o (-) si la infección viral simple sobre expresaba o no la proteína P16.

Relación de símbolos de referencias. En cada apartado se analiza el estado viral de la paciente en el control previo.

Progresión:

[®] Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 16 y 58 P16 (-).

[⌘] Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 16, 31, 52 y BR: 42.

[∞] Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 16.

[£] No virus detectado al 0 mes.

[¥] Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 31 y BR: 42.

^μ Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 33.

^Ω Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 16. Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR+BR: AR: 16 y BR: 83.

RESULTADOS

Persistencia:

- π No genotipado al 0 mes.
- α Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 18, 33.
- Φ Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 31.
- ρ No detección viral al 0 mes.
- \mathbb{U} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 51; BR: 61, 73.
- δ Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 51.
- \mathbb{C} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 52, 56.
- χ Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 56.
- \mathfrak{Z} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 16, 59.
- e. Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 16, 35, 51, 56. BR: 11, 62, 84.
Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR+BR: AR: 16. BR: 53.
- Ξ Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 31, 52.
Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR: 31, 52.
- $\acute{\Gamma}$ Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR: 18, 33.
Infección simple 12 meses VPH-AR: 18.
- \mathbb{Y} Negativo al 0 mes.
Negativo a los 12 meses.
- \mathbb{Jb} Negativo al 0 mes.
Infección simple 12 meses VPH-AR: 45.
- \mathbb{IO} Negativo al 0 mes.
Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR+BR: AR: 35, 45. BR: 67.
- \mathfrak{th} Infección simple al 0 mes: VPH-AR: 51.
Infección simple a los 12 meses: VPH-AR: 52.
- \mathfrak{B} Negativo al 0 mes.
No genotipado a los 12 meses.
- \mathfrak{I} Negativo al 0 mes.
Negativo a los 12 meses.
- ω Infección simple al 0 mes.
VPH-AR: 16, 59. Infección simple 12 meses VPH-AR: 59.
- \mathfrak{x} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 68. BR: 54.
Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR+BR: AR: 68. BR: 54.

Curación:

- \mathbb{Z} Negativo al 0 mes.
- \mathfrak{B} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 16. BR: 81, 84.
- \mathbb{V} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR+BR: AR: 16, 52, 58. BR: 83, GP6108.
No genotipado a los 12 meses.
- \mathfrak{Z} No genotipado al 0 mes.
No detección viral a los 12 meses.
- \mathfrak{N} Infección múltiple al 0 mes: VPH-AR + BR: AR: 35, 39. BR: 40, 53.
Infección múltiple a los 12 meses: VPH-AR+BR: AR: 16, 18, 51, 56. BR: 6, 66.

RESULTADOS

5.1.3.- Biopsias realizadas.

En este apartado detallamos las biopsias realizadas bajo visión colposcópica.

Se realizaron **559 biopsias** de cuello de útero, 194 en el momento 0 mes, 203 a los 12 meses y 162 a los 24 meses (Tabla 29).

Al inicio, en el momento 0 del estudio, en el 46,01% de pacientes (113 colposcopias) realizamos una sola biopsia cervical y en el 42,47% dos biopsias. Por tanto, en el 88,48% se realizaron una o dos biopsias.

A los 12 meses, en el 50,96% de los casos (104 colposcopias) realizamos 2 biopsias de cuello uterino. Una sola biopsia la realizamos en el 27,88% de las colposcopias. Así, en el 78,84% de las colposcopias realizadas se tomaron una o dos biopsias. Los 9 casos contabilizados como vacíos corresponden a las pacientes que habían abandonado el estudio o que habían progresado.

A los 24 meses en el 43,37% de las colposcopias realizadas (83 colposcopias) tomamos 2 biopsias de cérvix, seguido de un 32,53% de las veces en las que tomamos una sola biopsia. Por tanto, concluimos que en el 75,9% de los casos tomamos una o dos biopsias. En la casilla “vacías” aparecen 30 casos, derivados de las pacientes que abandonaron el estudio o progresaron.

Nº de biopsias/paciente	0 mes (113 pacientes)		12 meses (104 pacientes)		24 meses (83 pacientes)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 Biopsia	52	46,01	29	27,88	27	32,53
2 Biopsias	48	42,47	53	50,96	36	43,37
3 Biopsias	7	6,19	20	19,23	18	21,68
4 Biopsias	6	5,3	2	1,92	2	2,40
Vacías*	0	0	9		30	

* Pacientes perdidos por haber abandonado o progresado.

Nº = número de pacientes.

% = porcentaje de pacientes respecto al total de colposcopias realizadas.

Tabla 29. Número de Biopsias/ pacientes, realizadas en los momentos 0, 12 y 24 meses de estudio.
Número de Biopsias/ pacientes, realizadas en los momentos 0, 12 y 24 meses de estudio.

RESULTADOS

Respecto a la **localización horaria** de la toma de la biopsia (Tabla 30), en el momento 0 mes del estudio, en el 29,89%, de las 194 biopsias realizadas, se tomaron a las 12 horarias, seguidas del 19,1% de las veces que se tomaron a las 6 horas.

A los 12 meses del estudio, en el 29,06% de las biopsias se realizaron a las 12 horas, seguidas de las 6 horarias en un 20,2%.

En el momento 24 meses, en el 29,01% de las biopsias se realizaron a las 12 horarias, seguida de las 6 horas en un 19,1%.

Biopsias horarias/paciente	0 mes		12 meses		24 meses	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 horarias	7	3,6	8	3,94	6	3,7
2 horarias	13	6,7	12	5,9	12	7,4
3 horarias	14	7,21	9	4,43	7	4,32
4 horarias	3	1,54	7	3,44	7	4,32
5 horarias	7	3,6	9	4,43	6	3,7
6 horarias	37	19,1	41	20,2	31	19,1
7 horarias	12	6,18	14	6,89	8	4,93
8 horarias	6	3,1	12	5,9	9	5,6
9 horarias	11	5,06	9	4,43	7	4,32
10 horarias	7	3,6	6	2,95	8	4,93
11 horarias	19	9,8	17	8,4	14	8,6
12 horarias	58	29,89	59	29,06	47	29,01
Total Biopsias	194	100	203	100	162	100

Nº = número de biopsias.

% = porcentaje respecto al total de biopsias realizadas.

Tabla 30. Biopsias cervicales practicadas en zonas horarias/ paciente, en los momentos 0, 12 y 24 meses.
Biopsias cervicales practicadas en zonas horarias/ paciente, en los momentos 0, 12 y 24 meses.

RESULTADOS

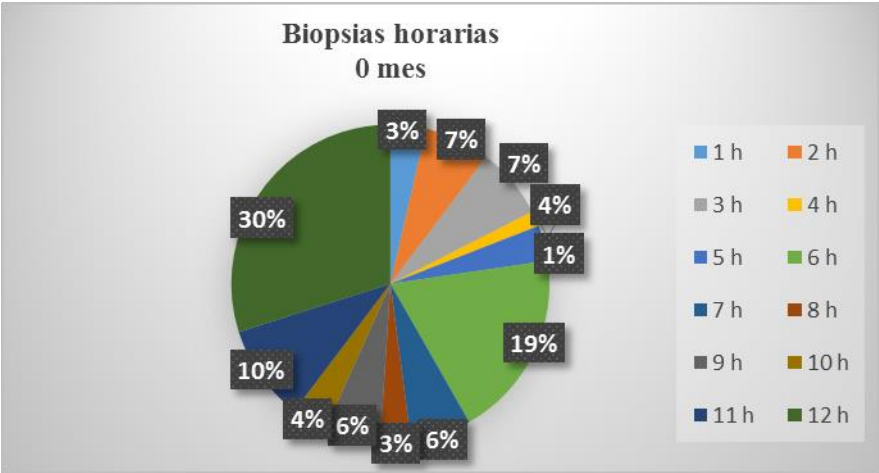


Gráfico 13. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 0 mes.

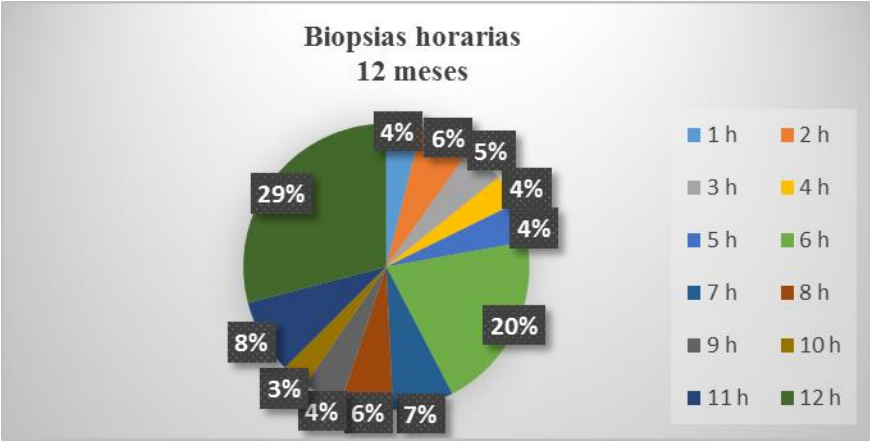


Gráfico 14. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 12 meses.

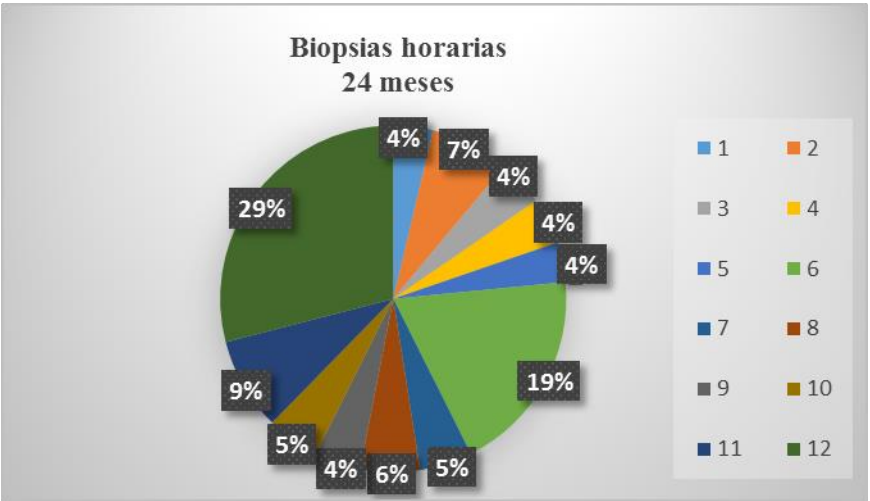


Gráfico 15. Porcentajes de biopsias horarias, practicadas en el momento 24 meses.

RESULTADOS

5.1.4.- Cuadrantes afectados.

Al inicio (Tabla 31), en el momento 0 del estudio, 2 pacientes (1,76%) presentaron colposcopia normal sin cuadrantes afectados. Ambas pacientes fueron remitidas para la realización de una colposcopia de control por presentar citología de alto y bajo grado, respectivamente. Las biopsias resultaron ser L-SIL, sobre expresando en los dos casos la proteína P16. Los dos casos persistieron al final del estudio.

Sólo en un 7,07% (8 pacientes) de las 113 colposcopias, los cuatro cuadrantes estaban afectados. De estas 8 pacientes, 3 progresaron durante el estudio, 4 persistieron y 1 curó al final del estudio.

Así, el 84,94% de las 113 colposcopias realizadas presentaron 1 o 2 cuadrantes afectados.

A los 12 meses de seguimiento, el porcentaje de colposcopias normales se incrementó al 7,69% (8 pacientes). De ellas, 5 persistieron, 2 curaron y una abandonó el estudio.

Por otra parte, va decreciendo el porcentaje de colposcopias con cuatro cuadrantes afectados a un 5,76% (6 pacientes). De estas mujeres, 4 progresaron y 2 persistieron.

A los 24 meses de seguimiento, el 53,01% de las colposcopias realizadas (83 colposcopias) presentaban una colposcopia normal. De estas 44 colposcopias sin cuadrantes afectados, 1 paciente progresó a lesión H-SIL. Este caso presentaba un discordancia cito histológica, pues la citología en medio líquido rezaba ASC-H (con presencia de virus de alto riesgo) y la biopsia “sin hallazgos de displasia”. Del resto de colposcopias sin cuadrantes afectados, 18 pacientes curaron y 25 persistieron. De las pacientes que persistieron, 12 presentaban biopsia con lesión L-SIL y 13 persistían por otros motivos.

Registramos 2 pacientes con los cuatro cuadrantes afectados, una de ellas progresó y la otra persiste sin hallazgos histológicos de L-SIL.

RESULTADOS

Cuadrantes afectados	0 mes (113 colposcopias)		12 meses (104 colposcopias)		24 meses (83 colposcopias)	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 Cuadrantes	2	1,76	8	7,69	44	53,01
1 Cuadrante	48	42,47	28	26,92	4	4,81
2 Cuadrantes	48	42,47	50	48,07	23	27,71
3 Cuadrantes	7	6,19	12	11,53	10	12,04
4 Cuadrantes	8	7,07	6	5,76	2	2,40
Vacías*	0		9		30	

* Pacientes perdidos por haber abandonado o progresado.

Nº = número de pacientes.

% = porcentaje de pacientes respecto al total.

Tabla 31. Números de cuadrantes afectados en los momentos 0, 12 y 24 meses.

RESULTADOS

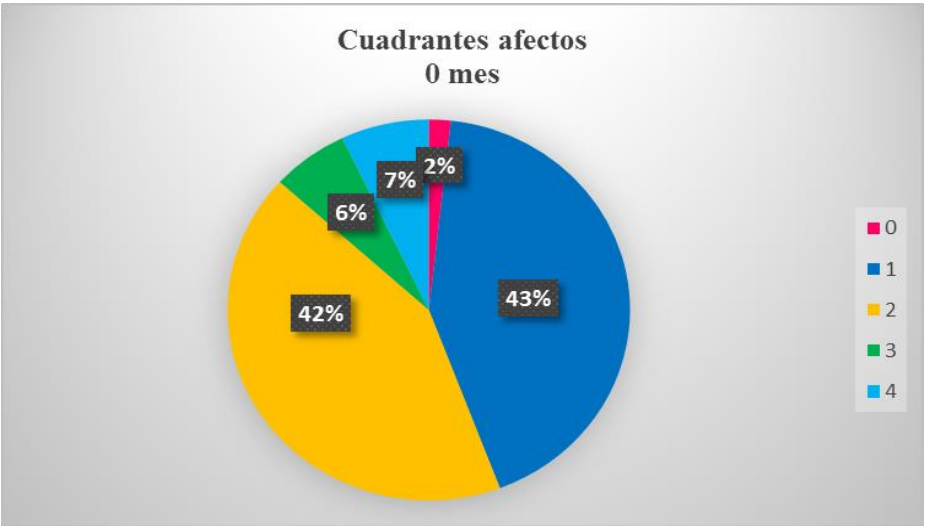


Gráfico 16. Porcentajes de Cuadrantes afectos, practicadas en el momento 0 mes.

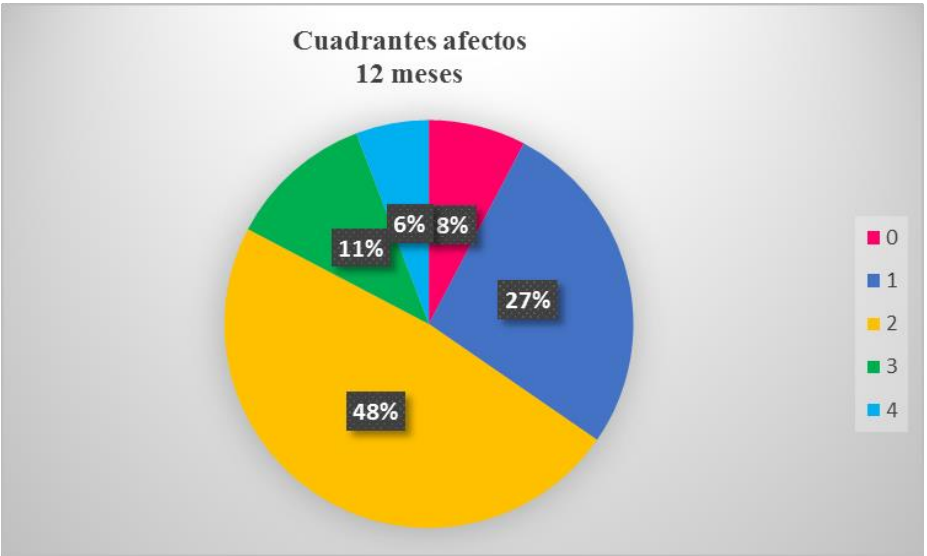


Gráfico 17. Porcentajes de Cuadrantes afectos, practicadas en el momento 12 meses.

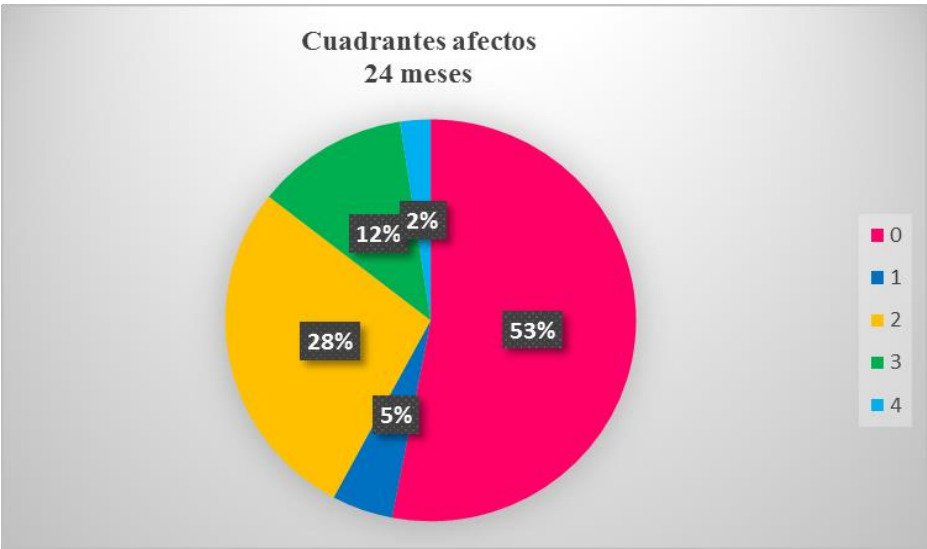


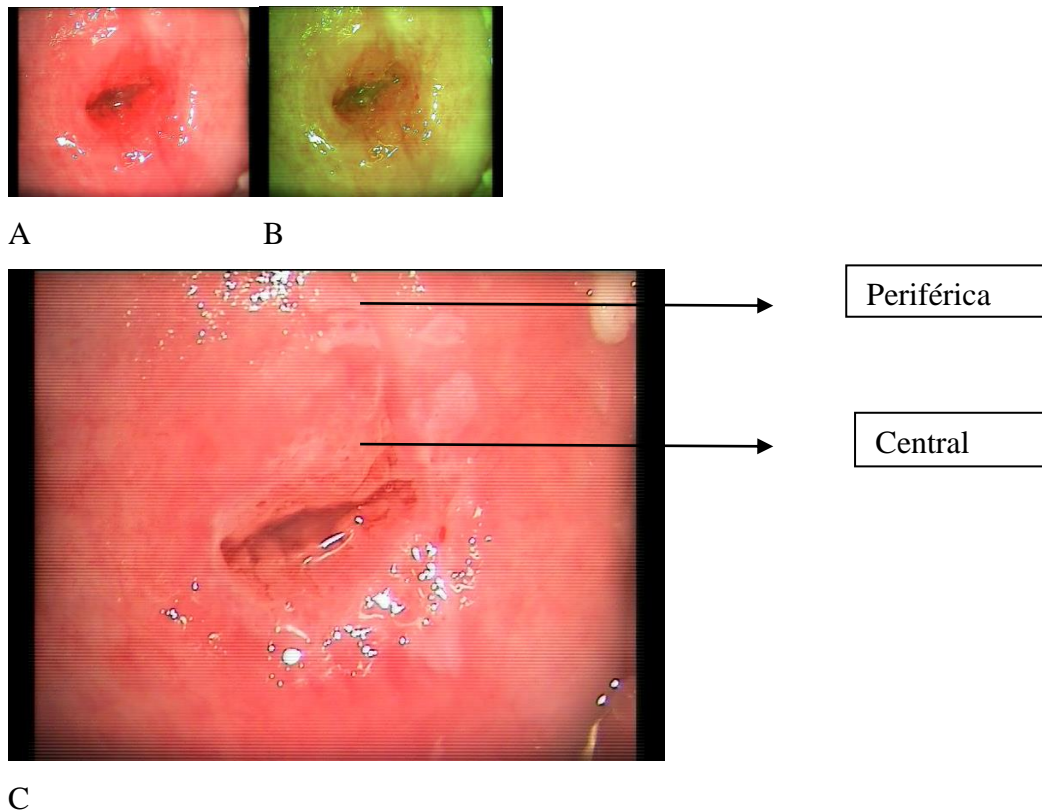
Gráfico 18. Porcentajes de Cuadrantes afectos, practicadas en el momento 24 meses.

RESULTADOS

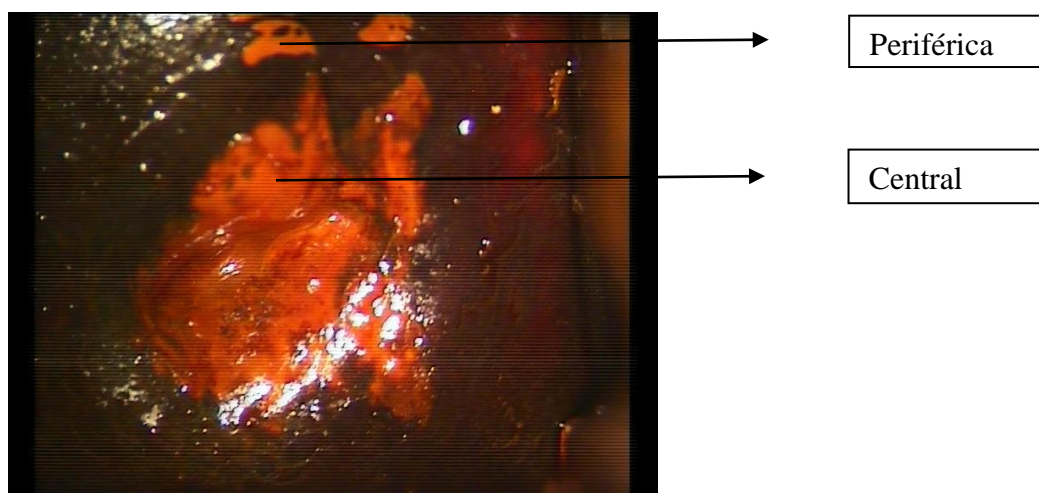
5.1.5.- Lesiones colposcópicas Centrales / Periféricas.

Entendemos, según recoge el Dr. D. Aureli Torné Blade en su Tesis Doctoral “Colposcopia Digital en las Lesiones Premalignas del cuello uterino. Morfometría y Análisis de imagen”(241), como lesiones centrales aquellas lesiones de cuello uterino que contactan con el orificio cervical externo o se insinúan en el canal endocervical y las lesiones periféricas son aquellas localizadas en el exocervix, en contacto o no con la zona de transformación, pero sin contacto con el orificio cervical externo (por tanto, son lesiones situadas por fuera del campo glandular o del epitelio cilíndrico periorificial normal).

Exponemos a continuación ejemplos de imágenes colposcópicas centrales y periféricas:



RESULTADOS



D

Imagen 6. Imágenes colposcópicas centrales y periféricas.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C: Imagen del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3%.

D: Test de Schiller.

Elaboración propia.

Las lesiones centrales predominan sobre las periféricas, en todos los momentos del estudio: 0 mes, 6, 12 y 24 meses (Tabla 32).

Las lesiones centrales van descendiendo en frecuencia a medida que nos acercamos a los 24 meses.

Las lesiones periféricas también van decreciendo en frecuencia hasta los 24 meses. Ninguna lesión periférica única produjo progresión.

Las localizaciones mixtas (periféricas y centrales) se incrementan desde el 0,88% en el momento 0 mes del estudio, hasta el 6,73% a los 12 meses y el 6,02% a los 24.

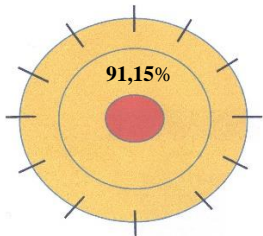
Un caso de progresión presentó una lesión mixta: central/periférica. Así, resultó ser: lesión central con el diagnóstico de H-SIL y la lesión periférica L-SIL.

Localización Lesión	0 mes 113 colposcopias N , %	6 mes 4 colposcopias N , %	12 meses 104 colposcopias N , %	24 meses 83 colposcopias N , %
Central	103 91,15	3 75	85 81,73	32 38,55
Periférica	5 4,42	0 0	4 3,84	1 1,20
Ambas	1 0,88	0 0	7 6,73	5 6,02
No lesión	2 1,76	0 0	8 7,69	44 53,01
No definido	2 1,76	1 25	0 0	1 1,20

Tabla 32. Prevalencia de lesiones centrales, periféricas y mixtas, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses del estudio.

RESULTADOS

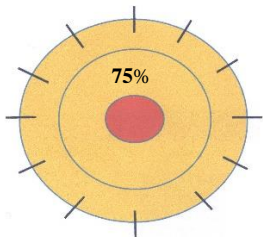
- **0 mes:**



- Centrales:	91,15%
- Periféricas:	4,42%
- Ambas:	0,88%
- No lesión:	1,76%
- No definido:	1,76%

Esquema. 51.

- **6 meses:**

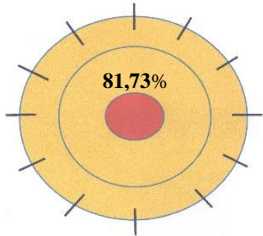


- Centrales:	75%
- No definido:	25%

Esquema. 52.

RESULTADOS

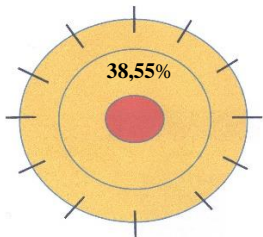
- 12 meses:



- Centrales:	81,73%
- Periféricas:	3,84%
- Ambas:	6,73%
- No lesión:	7,69%
- No definido:	0%

Esquema. 53.

- 24 meses:



- Centrales:	38,55%
- Periféricas:	1,20%
- Ambas:	6,02%
- No lesión:	53,01%
- No definido:	1,20%

Esquema. 54.

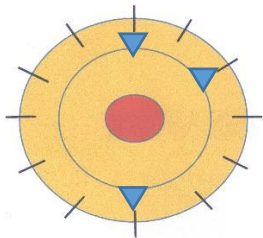
RESULTADOS

5.1.6.- Variaciones topográficas de P16.

En este apartado recogemos los 7 casos en los que aparecen lesiones L-SIL con sobre expresión de la proteína P16 y zonas, en la misma paciente, con lesiones L-SIL sin sobre expresar esta proteína. Todas estas pacientes fueron etiquetadas como “casos P16 (+)”, aunque presentaran zonas P16 (-).

Caso Nº 1:

- 0 mes: 3 biopsias realizadas. ▼



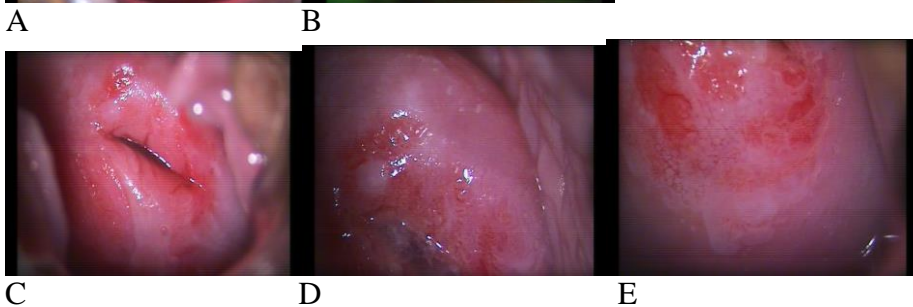
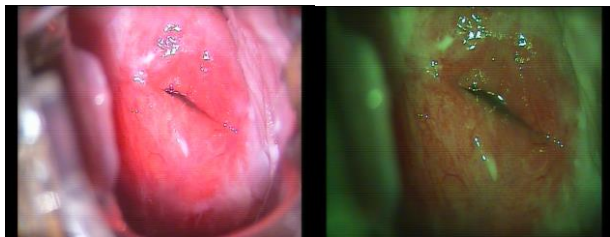
- 12 h: L-SIL. P16 (+).
- 2 h: L-SIL. P16 (-).
- 6 h: No Displasia. P16 (-).

Esquema. 55.

- 12 meses: 6 h: L-SIL, P16 (+). A las 12 y 2 h: no displasia.
- 24 meses: 6 h: L-SIL, P16 (-) positiva focal. A las 12 y 2 h: no displasia.

Catalogado como caso Persistente.

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas de esta paciente al inicio del estudio.



RESULTADOS

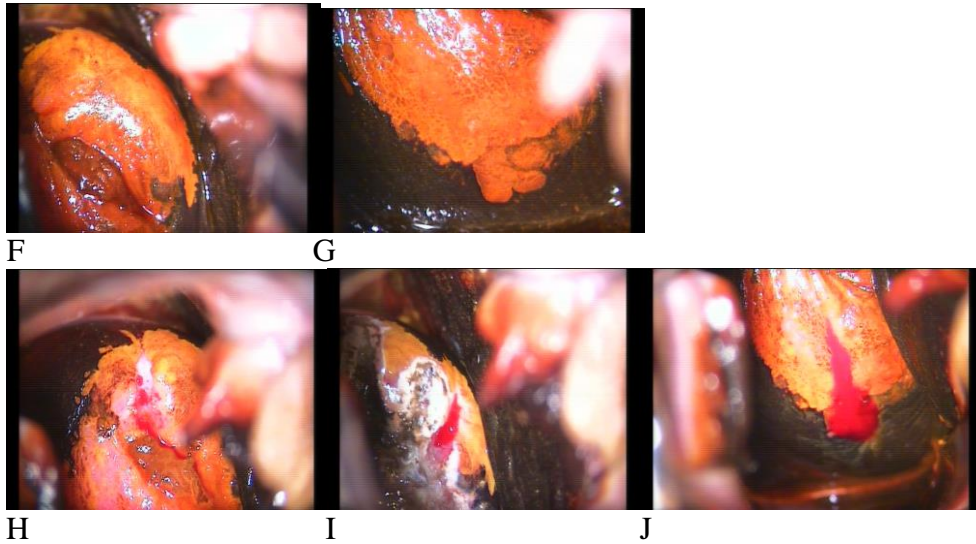


Imagen 7. Variaciones topográficas de P16 en el caso nº 1

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D, E (labio posterior): Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3%.

F (labio anterior), G (labio posterior): Test de Schiller.

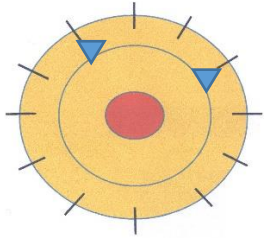
H, I, J: Biopsias de cérvix, 12, 2 y 6 horarias, respectivamente.

Elaboración propia.

RESULTADOS

Caso N° 2:

- 24 meses: 2 biopsias realizadas.▼



- 11 h: H-SIL (CIN I-II). P16 (+).
- 2 h: No displasia. P16 (-).

Esquema. 56.

Catalogado como caso Progresión a los 24 meses.

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas de esta paciente.

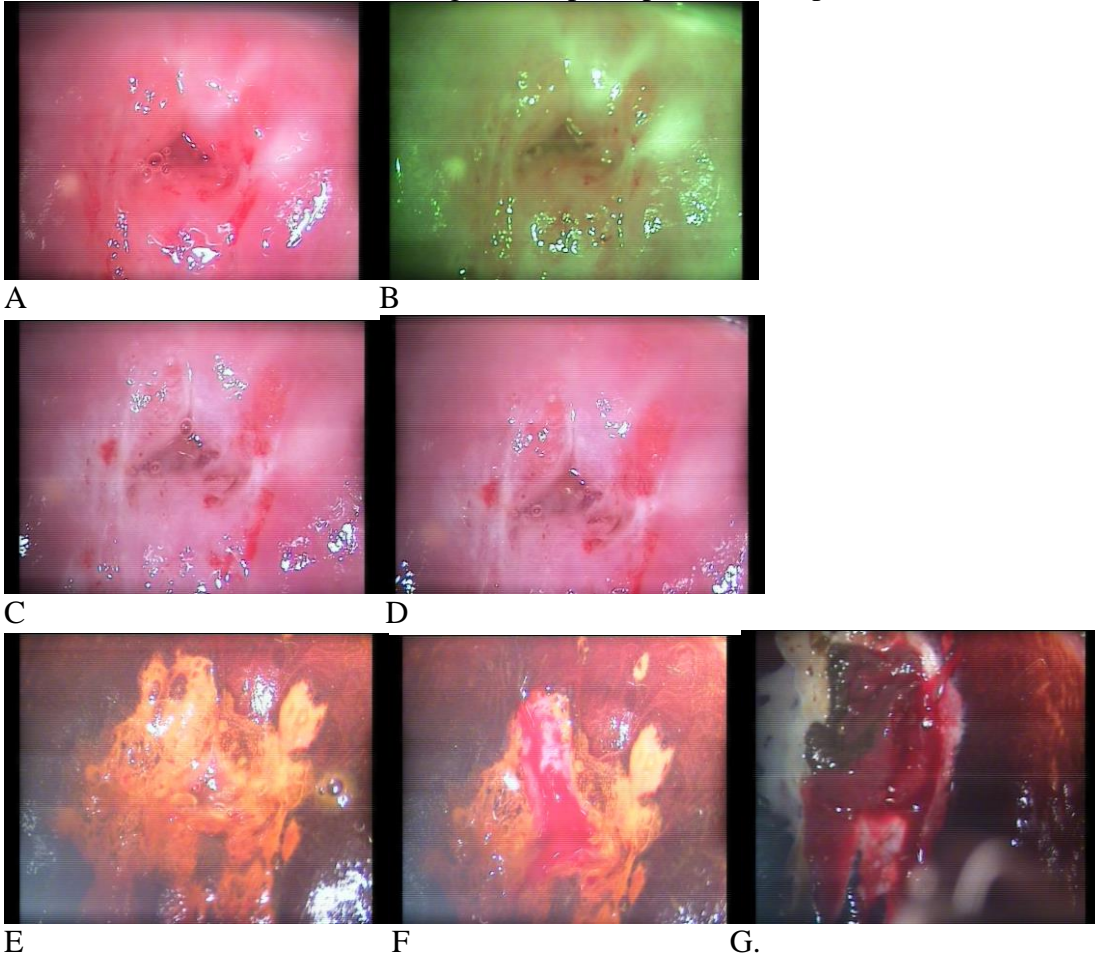


Imagen 8. Variaciones topográficas de P16 en el caso n° 2.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D: Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3 %.

E: Test de Schiller.

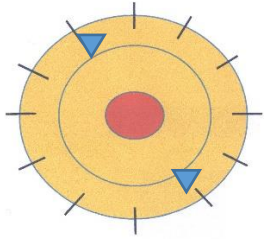
F, G: Biopsias de cérvix, a las 11 y 2 horarias, respectivamente.

Elaboración propia.

RESULTADOS

Caso N° 3:

- 12 meses: 2 biopsias realizadas.▼



- 11 h: L-SIL. (CIN I). P 16 (-).
- 5 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).

Esquema. 57.

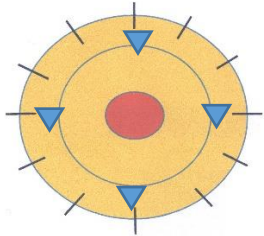
Caso catalogado como Progresión a los 12 meses.

Nota: No disponemos de imágenes colposcópicas.

RESULTADOS

Caso N° 4:

- 12 meses: 4 biopsias realizadas. ▼▼



- 12 h: H-SIL. (CIN II). P 16 (+).
- 3 h: Cervicitis. P 16 (-).
- 6 h: Cervicitis. P 16 (-).
- 9 h: Cervicitis. P 16 (-).

Esquema. 58.

Caso catalogado como Progresión a los 12 meses.

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas de esta paciente.

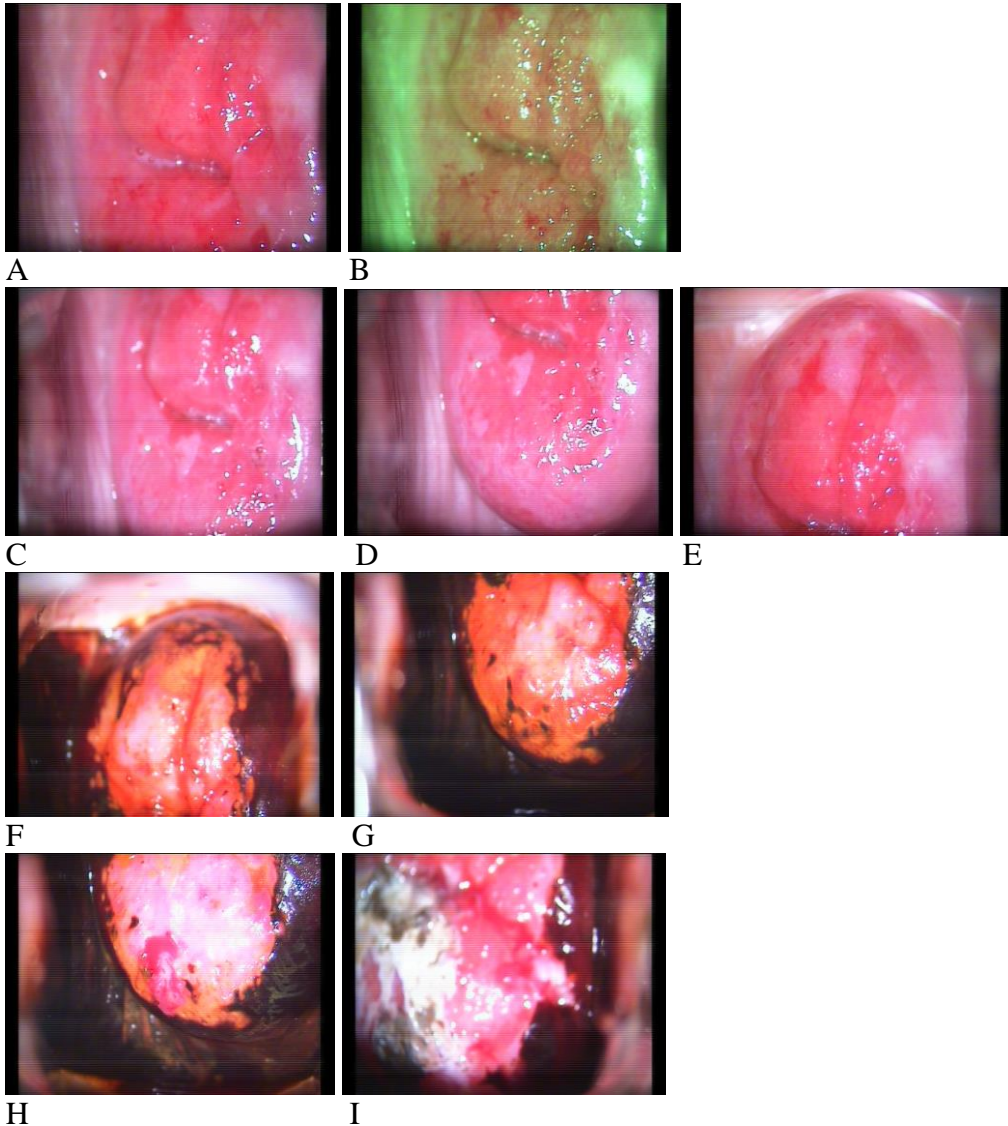


Imagen 9. Variaciones topográficas de P16 en el caso n° 4.
A: Imagen del cérvix al natural.

RESULTADOS

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D, E: Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3%.

F (labio anterior), G (labio posterior): Test de Schiller.

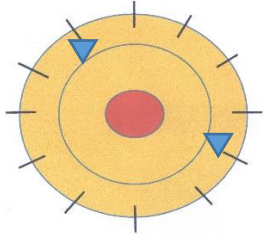
H, I: Biopsias de cérvix, a las 6 y 3 horarias, respectivamente.

Elaboración propia.

RESULTADOS

Caso N° 5:

- 12 meses: 2 biopsias realizadas. ▼



- 11 h: L-SIL (CIN I) P16 (-).
- 4 h: H-SIL (CIN II) P16 (+).

Caso catalogado como Progresión a los 12 meses.

Esquema. 59.

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas de esta paciente.

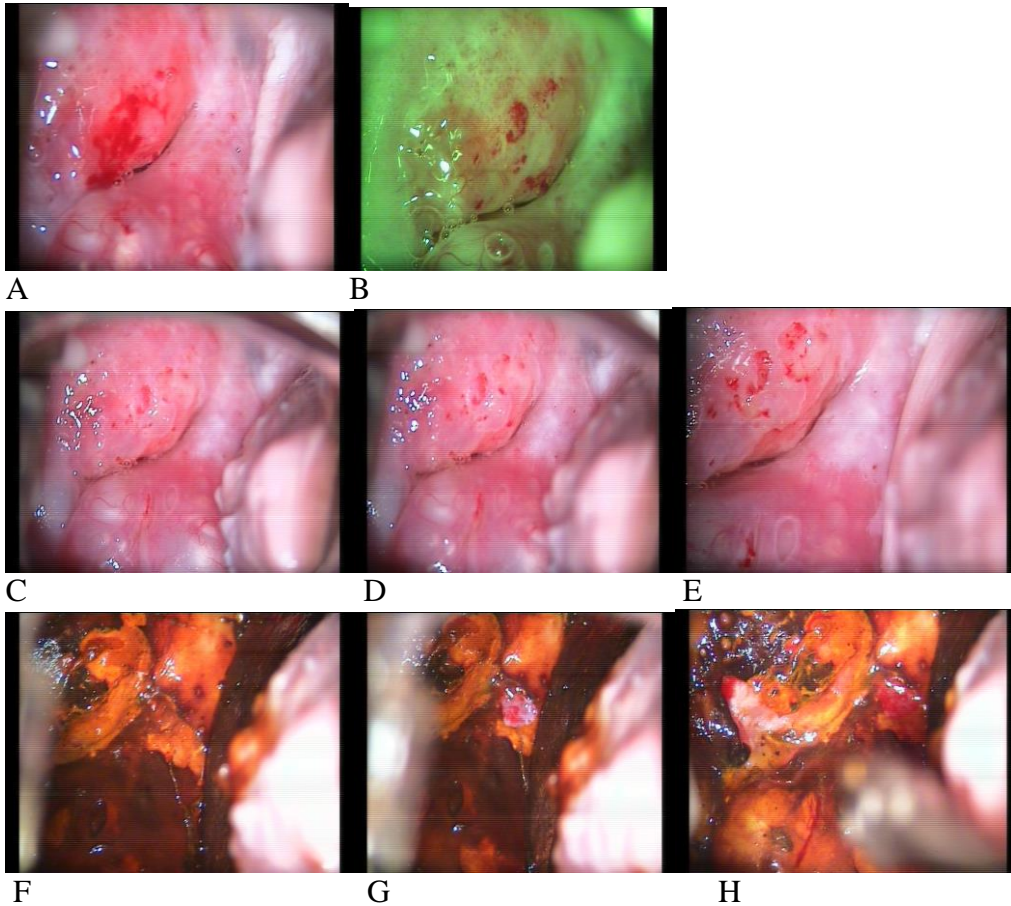


Imagen 10. Variaciones topográficas de P16 en el caso n° 5.

A: Imagen del cérvix al natural.

B: Imagen del cérvix con filtro verde.

C, D, E: Imágenes del cérvix bajo la acción de ácido acético al 3%.

F: Test de Schiller.

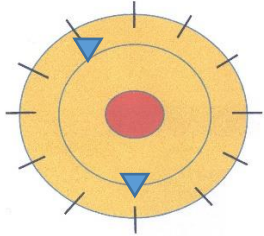
G, H: Biopsias de cérvix, a las 4 y 11 horarias, respectivamente.

Elaboración propia.

RESULTADOS

Caso N° 6:

- 12 meses: 2 biopsias realizadas. ▼



- 11 h: H-SIL (CIN II) P16 (+).
- 6 h: No displasia. P16 (-).

Caso catalogado como Progresión a los 12 meses.

Esquema. 60.

A continuación mostramos las imágenes colposcópicas de esta paciente:

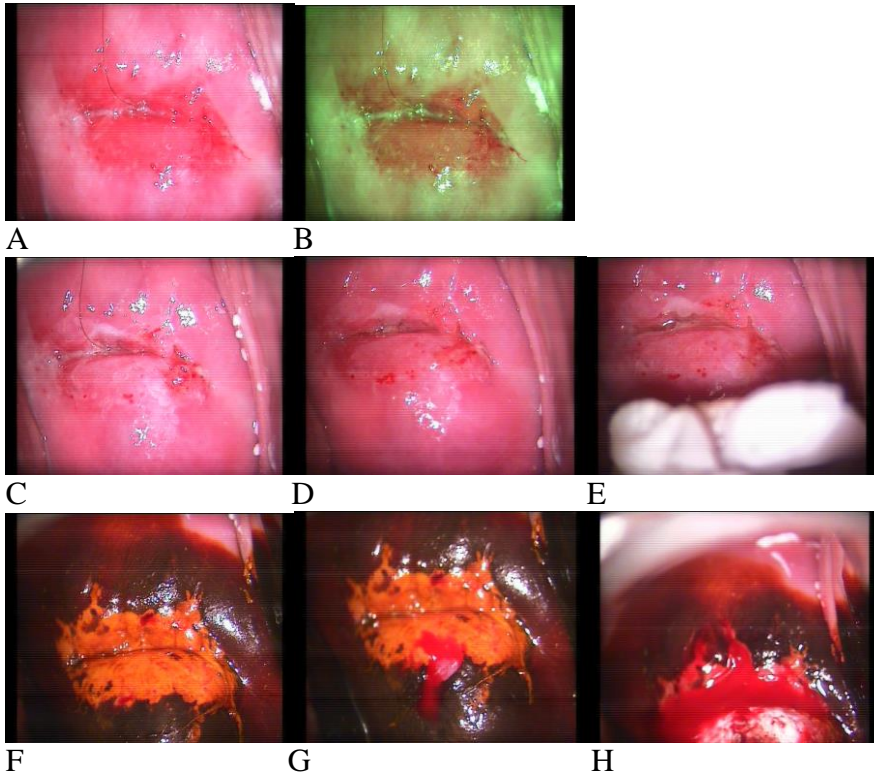


Imagen 11. Variaciones topográficas de P16 en el caso n° 6.

A: Imagen del cervix al natural.

B: Imagen del cervix con filtro verde.

C, D, E: Imágenes del cervix bajo la acción de ácido acético al 3%.

F: Test de Schiller.

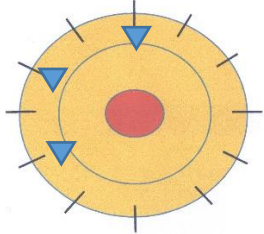
G, H: Biopsias de cervix, a las 6 y 11 horarias, respectivamente.

Elaboración propia.

RESULTADOS

Caso N° 7:

- 24 meses: 3 biopsias realizadas. ▼



- 12 h: No displasia. P16 (-). (Focalmente positivo).
- 8 h: No displasia. P16 (-).
- 10 h: H-SIL (CIN II-III). P16 (+).

Esquema. 61.

Caso catalogado como Progresión a los 24 meses.

Nota: No disponemos de imágenes colposcópicas.

RESULTADOS

5.2. Estudio ANALÍTICO.

5.2.1.- Sensibilidad/Especificidad/VPP/VPN de la Prueba P16.

En esta sección analizaremos la Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo de la **Prueba inmunohistoquímica P16**, consistente en determinar la sobre expresión de la proteína P16 en muestras histológicas.

Se realizaron 300 colposcopias sistemáticas programadas:

- 113 en el momento 0 mes,
- 104 en el momento 12 meses.
- 83 a los 24 meses.

No se han tenido en cuenta las 4 colposcopias realizadas a los 6 meses, ante el hallazgo de citología de alto grado. A los 18 meses no se realizó ninguna colposcopia.

En el apartado 5.1.3 se recogieron y analizaron las 559 biopsias realizadas en todo el estudio:

- 194 en el momento 0 mes.
- 203 en el momento 12 meses.
- 162 a los 24 meses.

En el **resultado histológico de cada colposcopia** se tomó el hallazgo histológico de mayor entidad. Así, si en un caso coincidían lesiones L-SIL y H-SIL, se etiquetaba la colposcopia con resultado H-SIL. Los resultados de las 300 colposcopias se dividieron en dos grupos: colposcopias con resultado H-SIL (17 pacientes) y colposcopias con diagnóstico L-SIL/Normal (283 pacientes). Recordemos que no se consideraron las 4 colposcopias realizadas a los 6 meses y a los 24 meses, el caso 21 presentó 2 biopsias cervicales con resultado “no displasia” y P16 (-). Sin embargo esta paciente progresó, pues en la citología endocervical rezaba H-SIL y la lesión se alojaba en el canal cervical (Discordancia cito/histológica).

Por otra parte, el **resultado P16 de cada paciente** se tomó **P16 (-)**, si todos los resultados de las biopsias realizadas en cada paciente eran P16 (-) o **P16 (+)** si la paciente presentaba alguna biopsia P16 (+) en ese momento, aunque coexistieran resultados P16 (+) y

RESULTADOS

P16 (-). Así, se dividieron a las pacientes en dos grupos: colposcopias con resultados P16 (+) (71 pacientes) y colposcopias con resultados P16 (-) (229 pacientes).

Con todo esto queremos decir que estamos **relacionando** el resultado inmunohistoquímico de la **Proteína P16 de cada paciente** con el diagnóstico **histológico/colposcópico** de cada colposcopia.

Los **resultados globales** se recogen en la siguiente tabla:

- **SENSIBILIDAD:** 100% (IC 95%: 81,6% - 100%).
- **ESPECIFICIDAD:** 80,9% (IC 95%: 75,9 % - 85,1%).
- **VPP:** 23,9% (IC 95%: 15,5 % - 35%).
- **VPN:** 100% (IC 95%: 98,4% - 100%).
- **Proporción FP:** 19,1% (IC 95%: 14,9% - 24,1%).
- **Proporción FN:** 0,0% (IC 95%: 0,0% - 18,4%).
- **EXACTITUD:** 82% (IC 95 %: 77,3% - 85,9%).

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; FP: Falsos Positivos; FN: Falsos Negativos.

CARACTERÍSTICA EVALUADA			
	H-SIL (Prueba de referencia +)	Normal/ I-SIL (Prueba de referencia -)	
P16 +	17	54	71
P16 -	0	229	229
	17	283	300

		IC	95%
Sensibilidad	100,0%	81,6%	a 100,0%
Especificidad	80,9%	75,9%	a 85,1%
Valor predictivo positivo	23,9%	15,5%	a 35,0%
Valor predictivo negativo	100,0%	98,4%	a 100,0%
Proporción de falsos positivos	19,1%	14,9%	a 24,1%
Proporción de falsos negativos	0,0%	0,0%	a 18,4%
Exactitud	82,0%	77,3%	a 85,9%

Tabla 33. Tabla Global de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos, Exactitud.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

Por otra parte, hemos dividido el estudio en tres apartados: mes 0 del estudio (al inicio), 12 meses de seguimiento y 24 meses, ya que observamos cómo puede variar la expresión de P16 en una paciente a lo largo del seguimiento. Así, casos P16 (+) al inicio se han negativizado y viceversa. Por tanto, entendemos que la sensibilidad de la Prueba P16 puede cambiar a lo largo del estudio.

5.2.1.1.- Análisis al inicio del estudio (0 mes).

Al inicio, todos los resultados histológicos de las colposcopias/biopsias cervicales realizadas fueron L-SIL, por tanto no disponíamos de casos histológicos H-SIL en el momento 0 del estudio. Por consiguiente, no tendría sensibilidad la P16 en el momento 0.

CARACTERÍSTICA EVALUADA			
PRUEBA DIAGNÓSTICA +	PRESENTE	AUSENTE	
	(Prueba de referencia +)	(Prueba de referencia)	
	0	44	
PRUEBA DIAGNÓSTICA -	0	69	69
		113	

		IC 95%	
Sensibilidad			
Especificidad	61,1%	51,8%	a 69,5%
Valor predictivo positivo			
Valor predictivo negativo	100,0%	94,7%	a 100,0%
Proporción de falsos positivos	38,9%	30,5%	a 48,2%
Proporción de falsos negativos			

Tabla 34. Tabla 0 MES de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos.
Realizada por Juan Manuel Praena.

5.2.1.2.- Análisis a los 12 meses.

A los 12 meses del seguimiento del estudio, relacionamos el resultado de la sobre expresión de la proteína P16 (Test = determinación de la proteína P16) con el resultado histológico dominante de la colposcopia realizada = (EN).

RESULTADOS

Recordemos que recogimos dos casos (números 5 y 11) de biopsias cervicales H-SIL en los que no se sobre expresaba la proteína P16 (Falsos negativos referido a la biopsia concreta).

Así, para una prevalencia de 0,1786 y teniendo en cuenta un % de H-SIL (respecto del total de biopsias realizadas), de un **6,45%** de H-SIL, obtenemos los siguientes valores:

- Sensibilidad: 0,8824 con IC al 95% (0,6356 – 0,9854).
- Especificidad: 0,9310 con IC al 95% (0,8559 – 0,9743).
- Valor predictivo positivo: 0,0454
- Valor predictivo negativo: 0,0005
- OR (Odds Ratio): 101.2500 con IC al 95% (18.6363 – 550.0860).
- Ji cuadrado de Pearson (X^2): valor de $p = < 0.0001$

5.2.1.3.- Análisis a los 24 meses.

A los 24 meses también relacionamos el resultado de la sobre expresión de la proteína P16 (Test = determinación de la proteína P16) con el resultado histológico de la colposcopia del cuello de útero = (EN).

No obtuvimos ningún caso de Falso negativo, referido a las biopsias.

Así, para una prevalencia de 0.1786 y teniendo en cuenta un % de H-SIL (respecto del total de biopsias realizadas), de un **6,45%** de H-SIL, obtenemos los siguientes valores:

- Sensibilidad: 1,0000 con IC al 95% (0,2924 – 1,0000)
- Especificidad: 0.9625 con IC al 95% (0,8943 - 0,9922)
- Valor predictivo positivo: 0.0901
- Valor predictivo negativo: 0.0000
- OR (Odds Ratio): 1.7976 con IC al 95% (0.0000 – 1.7976)
- Ji cuadrado de Pearson (X^2): valor de $p = < 0.0001$

RESULTADOS

Por último, **comparamos las sensibilidades de la Prueba P16** entre:

- a.- Los meses 0 y 12.
- b.- Los meses 12 y 24.

a.- **Comparación P16 0 mes vs P16 a los 12 meses.**

Tabla de contingencia P16_0 Mes * P16_12meses					
			P16_12meses		Total
			Negativo	Positivo	
P16_0_Mes	Negativo	Recuento	53	13	66
		% del total	51,0%	12,5%	63,5%
	Positivo	Recuento	30	8	38
		% del total	28,8%	7,7%	36,5%
Total		Recuento	83	21	104
		% del total	79,8%	20,2%	100,0%

Tabla 35. Tabla de contingencia comparativa entre la prueba P16 realizada al inicio frente a la prueba P16 a los 12 meses.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Pruebas de chi-cuadrado		
	Valor	Sig. exacta (bilateral)
Prueba de McNemar		,014^a
N de casos válidos	104	

Nota: Utilizada la distribución binomial

Tabla 36. Pruebas de Chi Cuadrado / McNemar para el cálculo de la significación estadística entre la prueba P16 al inicio frente a los 12 meses.

Realizada por Juan Manuel Praena.

De los 0 meses a los 12 hay cambio de estado significativos (**p = 0,014**).

RESULTADOS

b.- Comparación P16 12 mes vs P16 a los 24 meses.

Tabla de contingencia P16_12meses * P16_24meses

			P16_24meses		Total
			Negativo	Positivo	
P16_12meses	Negativo	Recuento	72	4	76
		% del total	86,7%	4,8%	91,6%
	Positivo	Recuento	5	2	7
		% del total	6,0%	2,4%	8,4%
Total		Recuento	77	6	83
		% del total	92,8%	7,2%	100,0%

Tabla 37. Tabla de contingencia comparativa entre la prueba P16 realizada a los 12 meses frente a la prueba P16 a los 24 meses.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Sig. exacta (bilateral)
Prueba de McNemar		1,000 ^a
N de casos válidos	83	

Nota. Utilizada la distribución binomial

Tabla 38. Pruebas de Chi Cuadrado / McNemar para el cálculo de la significación estadística entre la prueba P16 realizada a los 12 meses frente a los 24 meses.

Realizada por Juan Manuel Praena.

De los 12 a los 24 meses no hay cambios significativos de estado.

RESULTADOS

5.2.2.- Incidencias acumuladas: (Citologías H-SIL/Histologías H-SIL).

5.2.2.1.- Incidencias acumuladas para Citología H-SIL.

Hemos estudiado los porcentajes acumulados de las citologías de alto y bajo grado, a lo largo del estudio, en los meses 0, 6, 12 y 24.

En el grupo de **citologías de alto grado** consideramos a los **H-SIL** y los **ASC-H**.

En las **citologías de bajo grado** agrupamos a los **ASCUS** y **L-SIL**.

Así, las **Incidencias acumuladas** para las citologías de alto grado son:

- 0 mes: 20,4%
- 6 meses: 33,9% (H-SIL: 27,5%; ASC-H: 6,4%)
- 12 meses: 28,8% (H-SIL: 25%; ASC-H: 3,8%).
- 24 meses: 31,3% (H-SIL: 30,1%; ASC-H: 1,2%)

RESULTADOS

5.2.2.2 Incidencias acumuladas para Biopsia/Histología H-SIL.

En este apartado analizamos los porcentajes acumulados de las **lesiones histológicas** de alto grado **H-SIL** y de bajo grado L-SIL, en los meses 12 y 24 del seguimiento del estudio, sin diferenciar entre paciente P16 (+) y (-).

Por tanto, las **Incidencias acumuladas** de los resultados histológicos son:

- 12 meses: 13,5% de H-SIL (frente al 52,9% de L-SIL).
- 24 meses: 3,6% de H-SIL (frente al 27,7% de L-SIL).

- En el estudio de **Liao et al**, comunican que la **incidencia** acumulada CIN II+, de dos años, para las mujeres P16 INK4a positivas fue mayor, (10,71%), que para las mujeres P16 INK4a negativas (1,30%) (RR crudo 8,25, IC del 95%: 1,02 a 66,62).

RESULTADOS

5.2.3.- Método de Kaplan-Meier.

Para estimar la probabilidad de supervivencia individual acumulada a lo largo de un periodo de tiempo dado (probabilidad de estar libre de enfermedad, que en nuestro caso sería la progresión de las lesiones L-SIL a H-SIL) se suele utilizar el método de Kaplan–Meier. En nuestro estudio lo hemos utilizado para estimar la probabilidad de que ocurra nuestro “evento”, es decir, la aparición de un caso de progresión de lesión: **H-SIL**.

Es un método no paramétrico, no presupone que los datos tengan una distribución particular, ni se basa en utilizar parámetros de resumen (media, desviación estándar, etc.).

Los **sujetos censurados** se definen como los que “abandonan” el estudio, los que “persisten” y los que “curan” al final del estudio.

Es importante suponer que la **censura no sea informativa**. Es decir, asume que los sujetos censurados se habrían comportado del mismo modo que los que han sido objeto de seguimiento hasta la aparición del evento si se hubiese podido observar en tiempos completos. Por tanto, no importa que existan muchos sujetos censurados, sino que la censura no sea informativa.

Los primeros datos obtenidos son las medias y medianas para el tiempo de supervivencia:

- Media: 23.44 meses. Error estándar: 0,551, para un IC del 95% (22,36 – 24,52).
- Mediana: la “supervivencia mediana” es el tiempo en el que están “vivos” (sin progresión a H-SIL) el 50% de los pacientes. En nuestro estudio no la podemos calcular porque la curva de supervivencia estimada de Kaplan-Meier está por encima de la horizontal trazada por el punto 0,50 de supervivencia acumulada (eje de ordenada). Por tanto, en ningún momento del seguimiento la supervivencia global acumulada en \leq al 50%.

RESULTADOS

- Curva de Función de Supervivencia: expresamos gráficamente como va disminuyendo la probabilidad de sobrevivir (de estar libre de enfermedad) a medida que pasa el tiempo. Cuando ocurre un **evento (H-SIL)** se refleja en la curva como un “escalón” descendente. Las censuras se indican mediante pequeñas “muescas” o líneas perpendiculares a la curva.

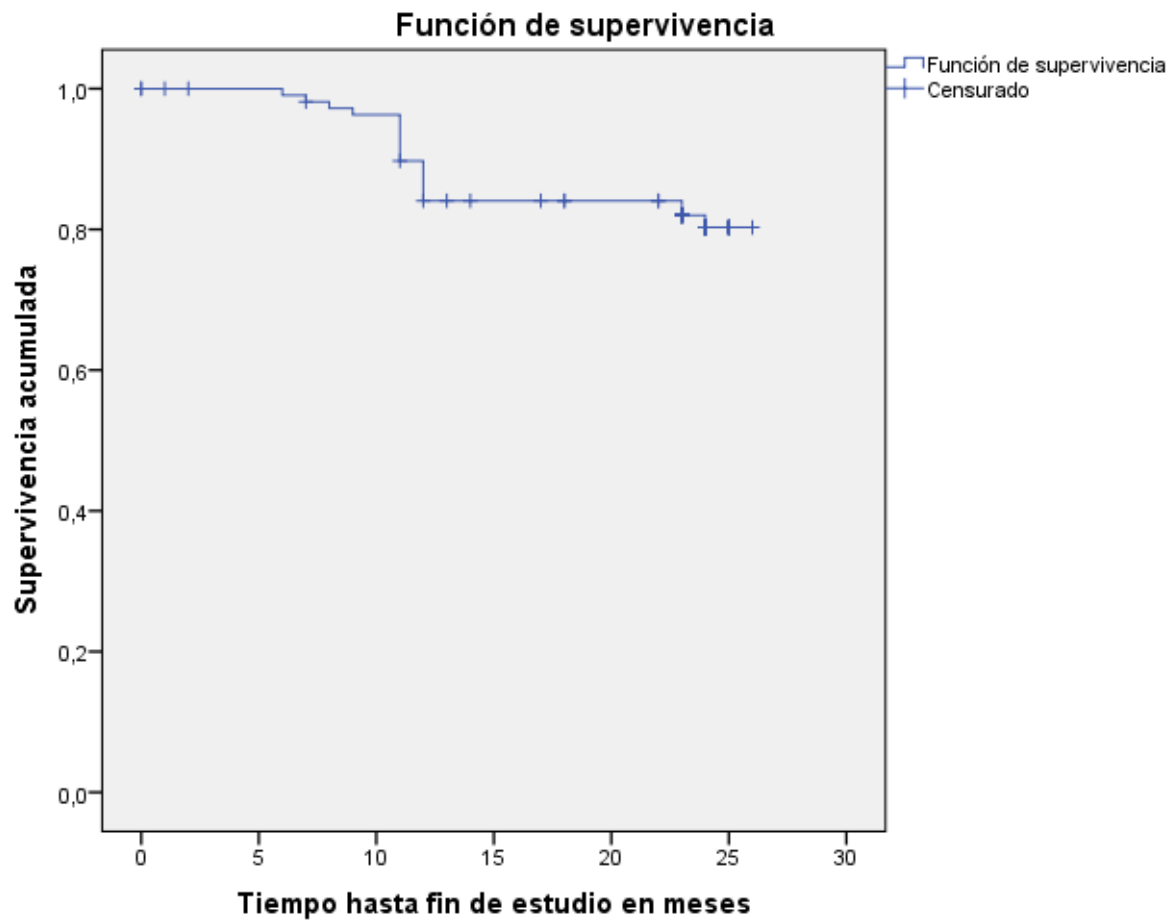


Gráfico 19. Curva de Función de Supervivencia Global_1 (meses).
Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

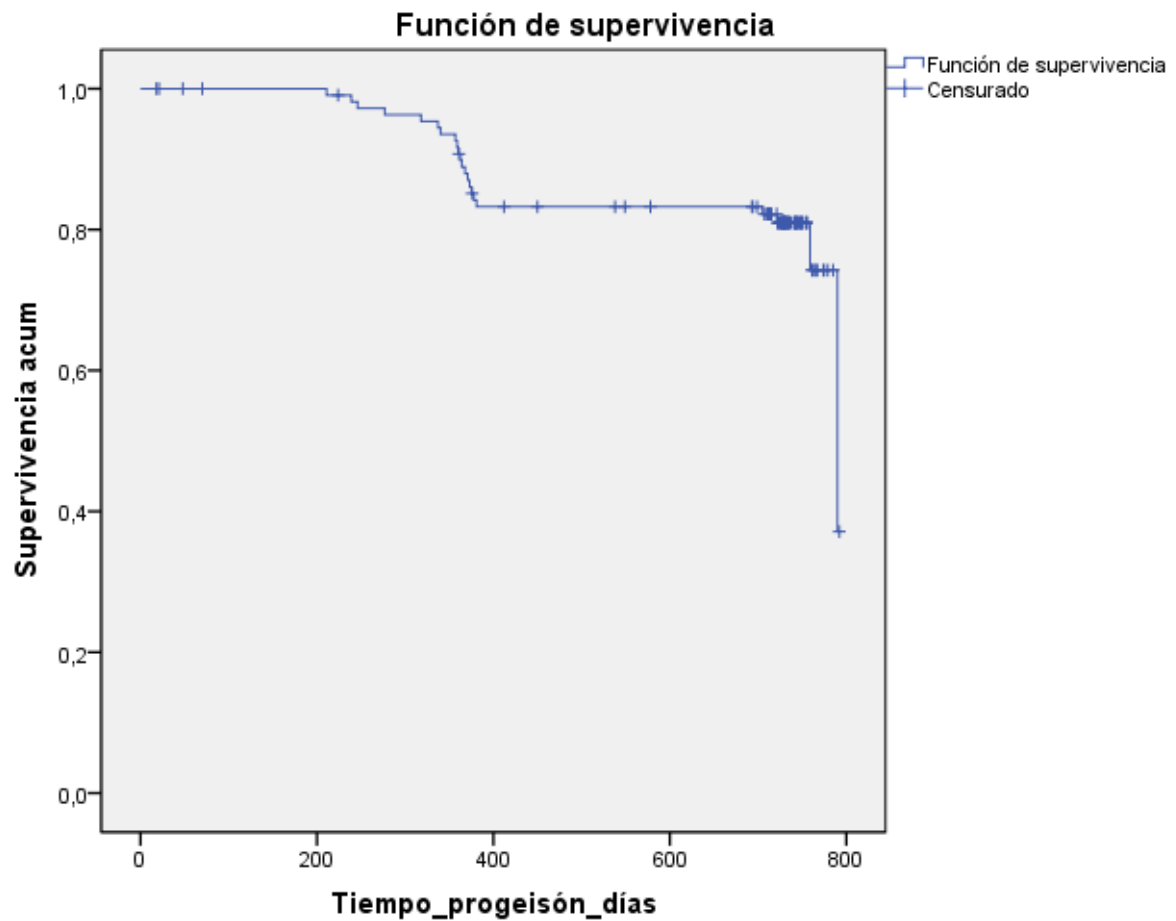


Gráfico 20. Curva de Función de Supervivencia Global_2 (días).
Realizada por Juan Manuel Praena.

A continuación estudiamos la Función de supervivencia respecto a las siguientes **variables**:

- a.- Edad.**
- b.- Paridad.**
- c.- Método anticonceptivo.**
- d.- Número de cuadrantes afectados en el momento 0 mes del estudio.**
- e.- Diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.**
- f.- Citología previa al estudio.**
- g.- VPH en el momento 0 mes.**
- h.- Sobre expresión de la Proteína P16 en el inicio del estudio.**

RESULTADOS

5.2.3.1.- Edad.

Dividimos la población en 3 subgrupos:

Mujeres < 25 años; Mujeres con edad comprendida entre 25-30 años; Mujeres > 30 años.

Resumen del procesamiento de los casos				
Edad_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
<25	19	2	17	89,5%
25-30	27	4	23	85,2%
>30	67	16	51	76,1%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 39. División de la muestra inicial en sub grupos de EDAD.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	2,361	1	,124

Tabla 40. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos de edad < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

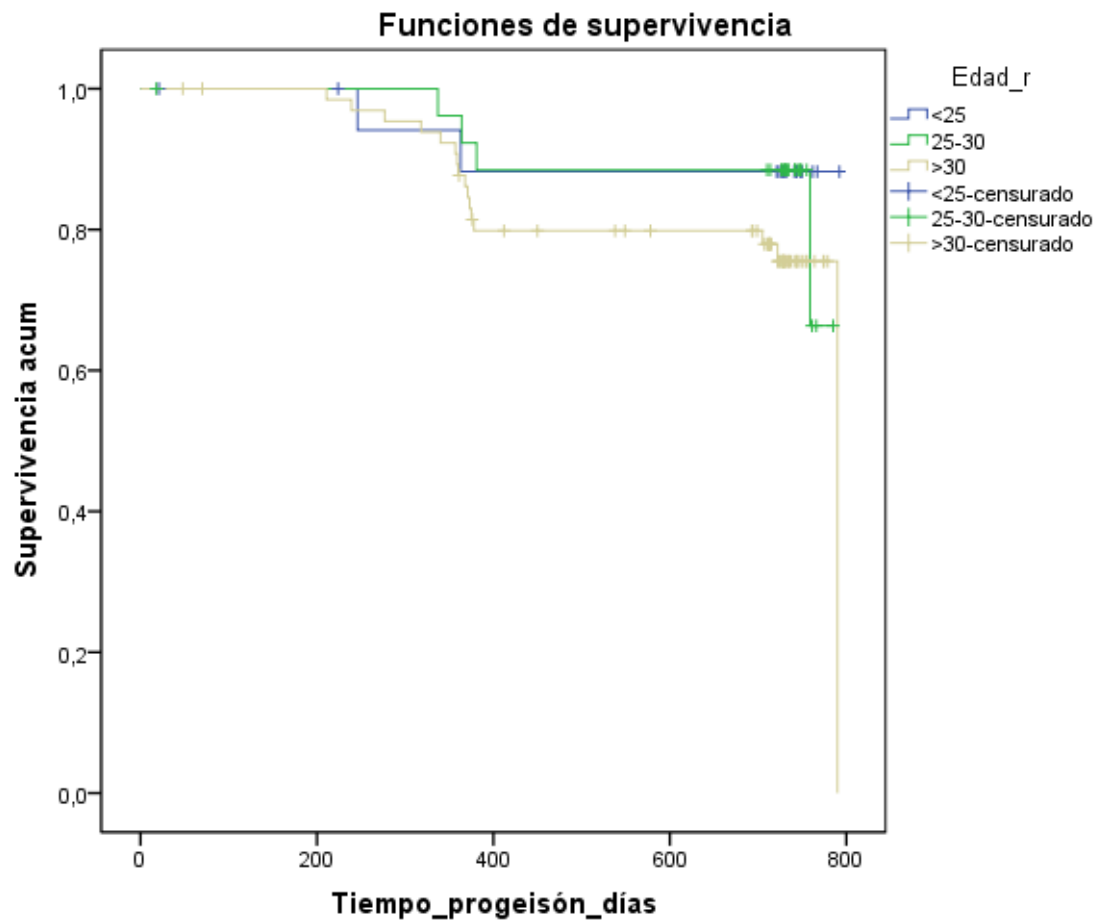


Gráfico 21. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos de edad < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Realizada por Juan Manuel Praena.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos.

Como los grupos, menor de 25 años y de 25 a 30 años son reducidos, los agrupamos todos ellos en menores de 30 años. Así reclasificamos nuestra población en ≤ 30 años y > 30 años.

RESULTADOS

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Media ^a					Mediana			
Intervalo de confianza al 95%					Intervalo de confianza al 95%			
Límite					Límite			
Edad_r	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior
<=30	735,066	22,430	691,103	779,030
>30	694,583	23,685	648,161	741,005	790,000	,000	.	.
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 41. Medias y medianas del tiempo de supervivencia entre los sub grupos de edad <= de 30 años y > de 30 años.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	2,308	1	,129

Tabla 42. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos de edad < = 30 años y > 30 años.

Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

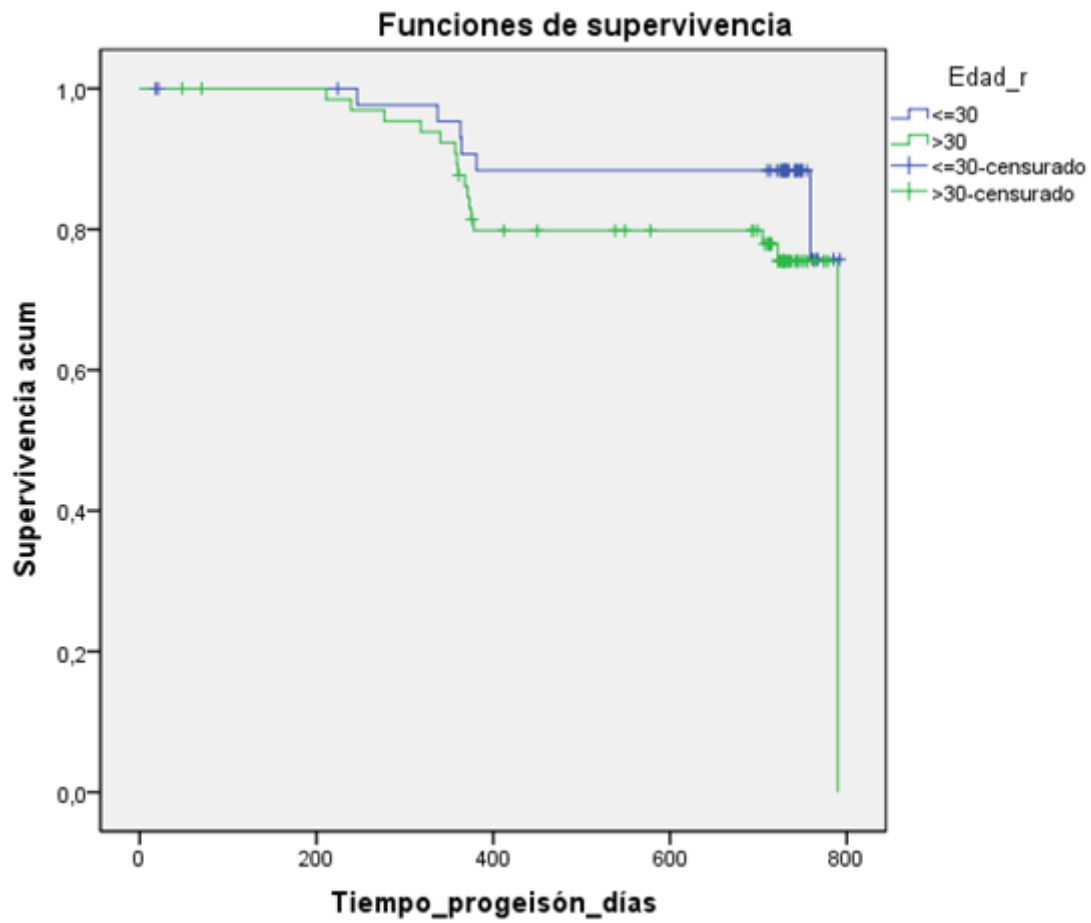


Gráfico 22. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos de edad ≤ 30 años y > 30 años. Realizada por Juan Manuel Praena.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos.

5.2.3.2.- Paridad.

Dividimos la población en dos subgrupos:

No= nulíparas; Si= 1-3 partos.

RESULTADOS

Resumen del procesamiento de los casos

Paridad_r	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
no	53	7	46	86,8%
si	60	15	45	75,0%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 43. División de la muestra inicial en sub grupos PARIDAD: nulíparas frente a ≥ 1 parto.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	2,272	1	,132

Tabla 44. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos paridad.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

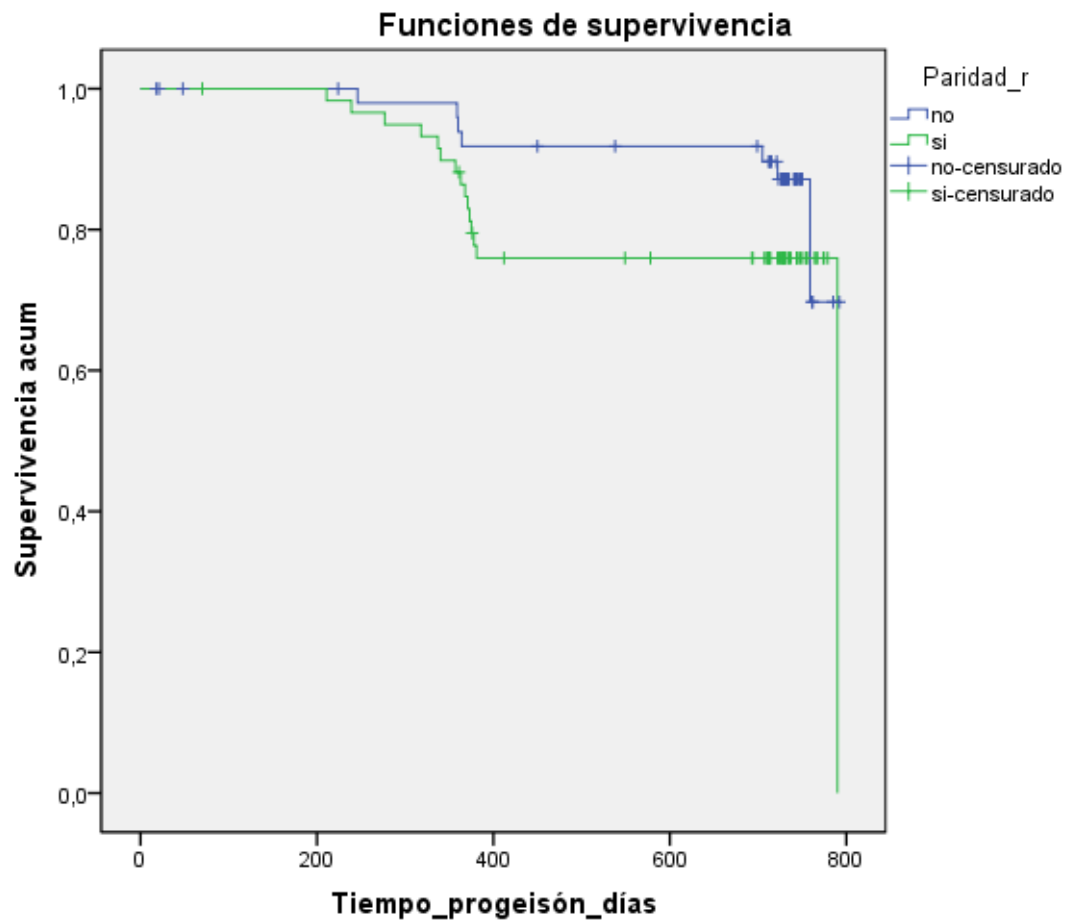


Gráfico 23. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos nulíparas y ≥ 1 parto. Realizada por Juan Manuel Praena.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos.

RESULTADOS

5.2.3.3.- Método Anticonceptivo.

Dividimos la población en cuatro subgrupos:

Barrera = preservativo; DIU no hormonal; Hormonal; Otros= No uso de anticonceptivos, no especificado, coito interruptus, bloqueo tubárico, Essure y vasectomía.

Resumen del procesamiento de los casos				
Método _Anticonceptivo	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Barrera	66	9	57	86,4%
DIU	5	1	4	80,0%
Hormonal	16	3	13	81,3%
Otros	26	9	17	65,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 45. División de la muestra inicial en sub grupos MÉTODOS ANTICONCEPTIVOS.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	5,246	3	,155

Tabla 46. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos paridad.

Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

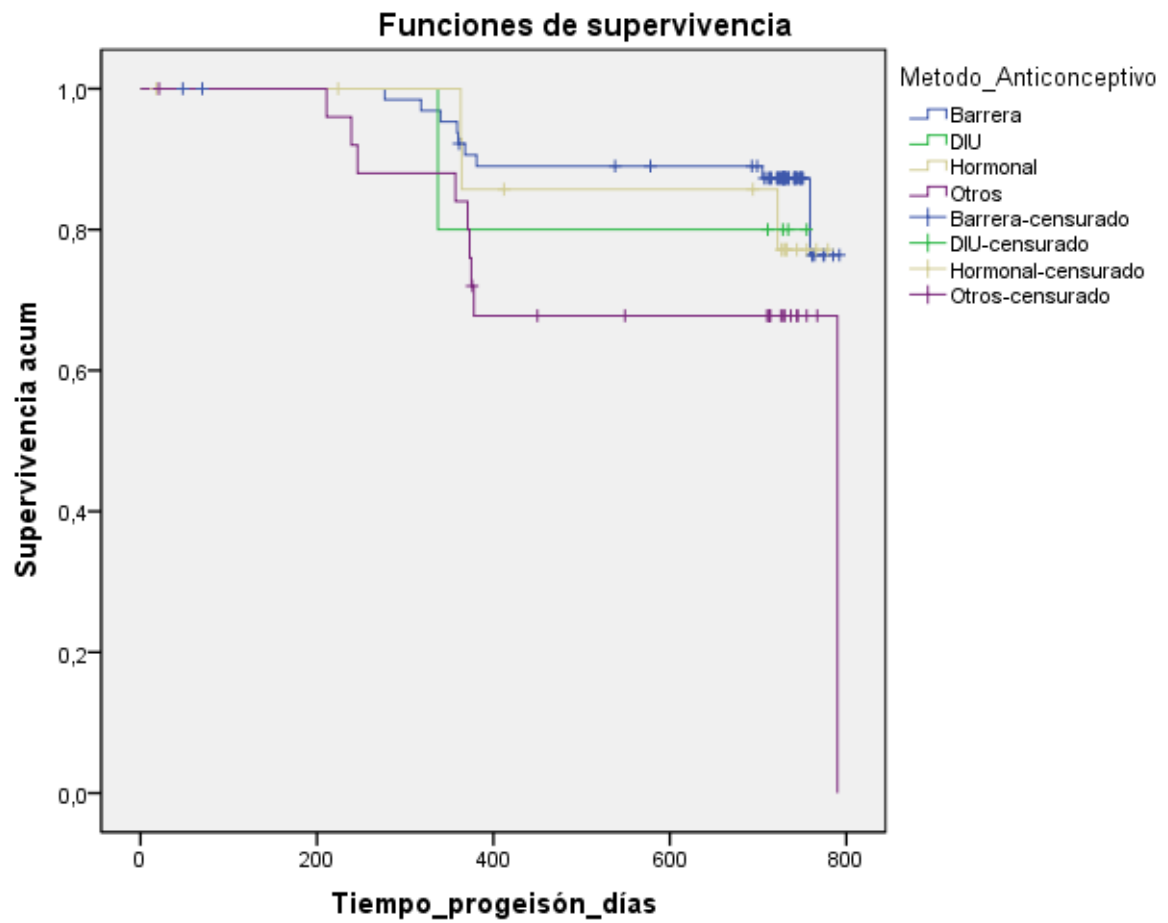


Gráfico 24. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos métodos anticonceptivos.
Realizada por Juan Manuel Praena.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos.

RESULTADOS

5.2.3.4.- Número de cuadrantes afectados en el momento 0 mes del estudio.

Dividimos la población en dos subgrupos:

Cuadrantes afectados 0/1; Más >1 cuadrante afecto.

Resumen del procesamiento de los casos				
Cuadrantes_afectos_0_mes_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
0/1	50	6	44	88,0%
>1	63	16	47	74,6%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 47. División de la muestra inicial en sub grupos Nº CUADRANTES AFECTOS.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3,090	1	,079

Tabla 48. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos nº cuadrantes afectados.

Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

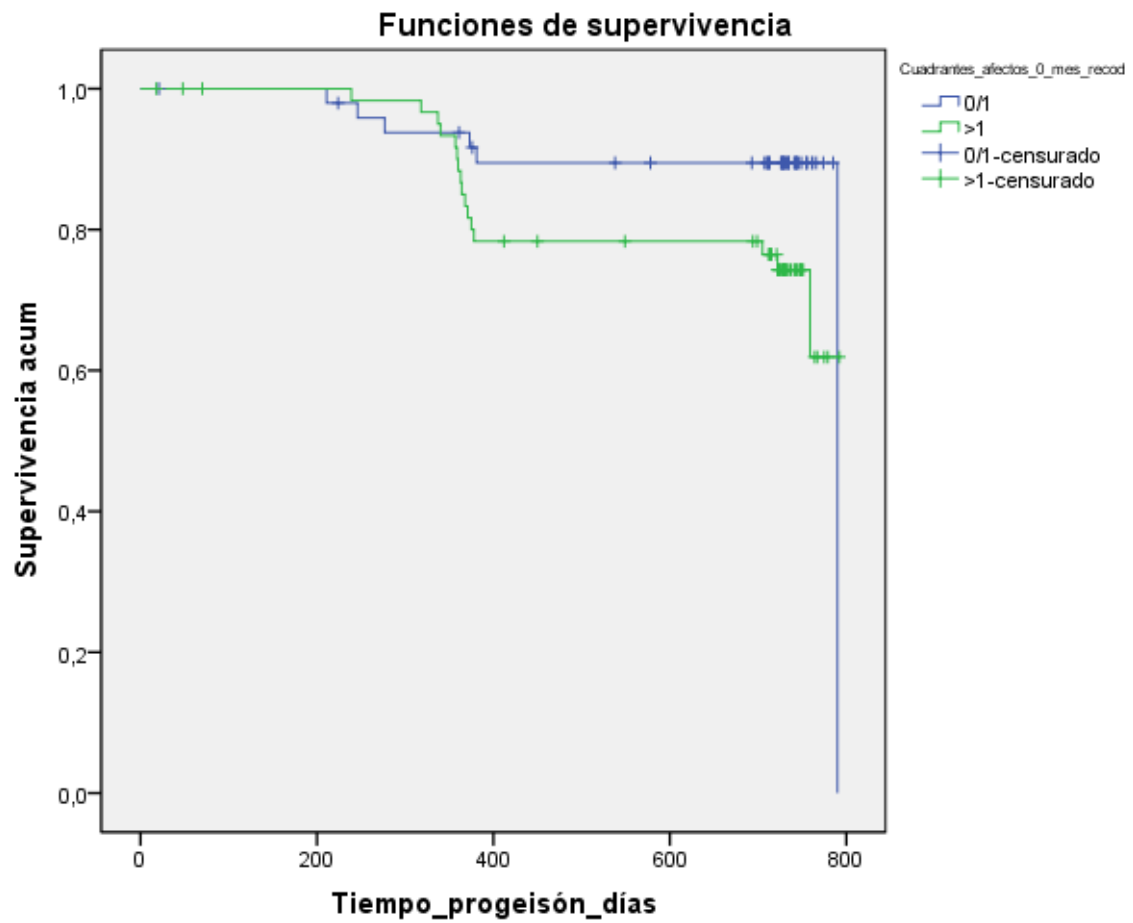


Gráfico 25. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos n° cuadrantes afectos. Realizada por Juan Manuel Praena.

Las diferencias se acercan a la significación estadística.

5.2.3.5.- Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.

Dividimos la población en dos subgrupos:

Normal/cambios menores y Cambios mayores.

RESULTADOS

Resumen del procesamiento de los casos				
Colposcopia _ o _mes_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Normal/ cambios. menores	82	16	66	80,5%
Cambios. mayores	31	6	25	80,6%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 49. División de la muestra inicial en sub grupos DIAGNÓSTICO COLPOSCÓPICO en el momento 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,003	1	,957

Tabla 50. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

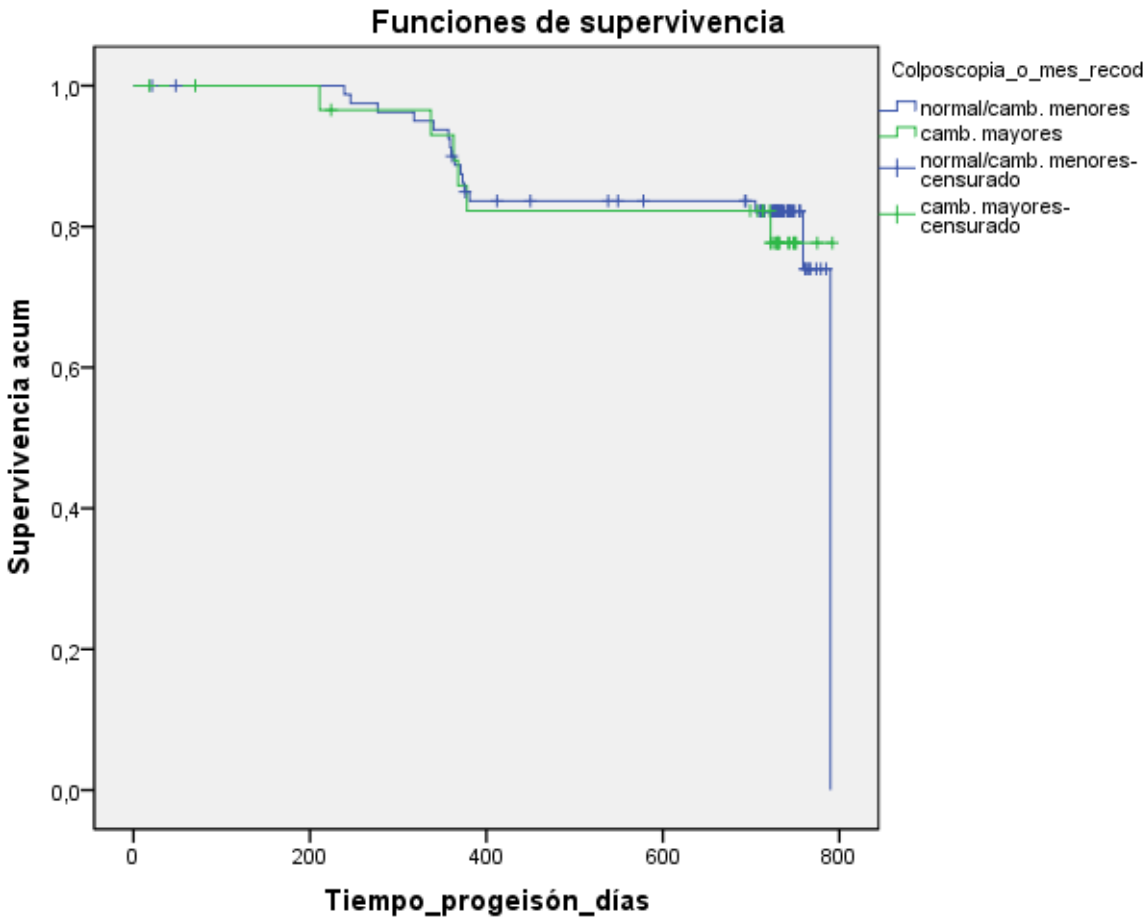


Gráfico 26. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos.

5.2.3.6.- Citología previa al estudio.

Dividimos la población en dos subgrupos:

Citologías de Alto grado; Citologías de Bajo grado.

Resumen del procesamiento de los casos				
Cito_previa_0_mes	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
ALTO GRADO	23	8	15	65,2%
BAJO GRADO	90	14	76	84,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 51. División de la muestra inicial en sub grupos CITOLOGÍA PREVIA al estudio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3,551	1	,060

Tabla 52. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos citología previa al inicio del estudio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

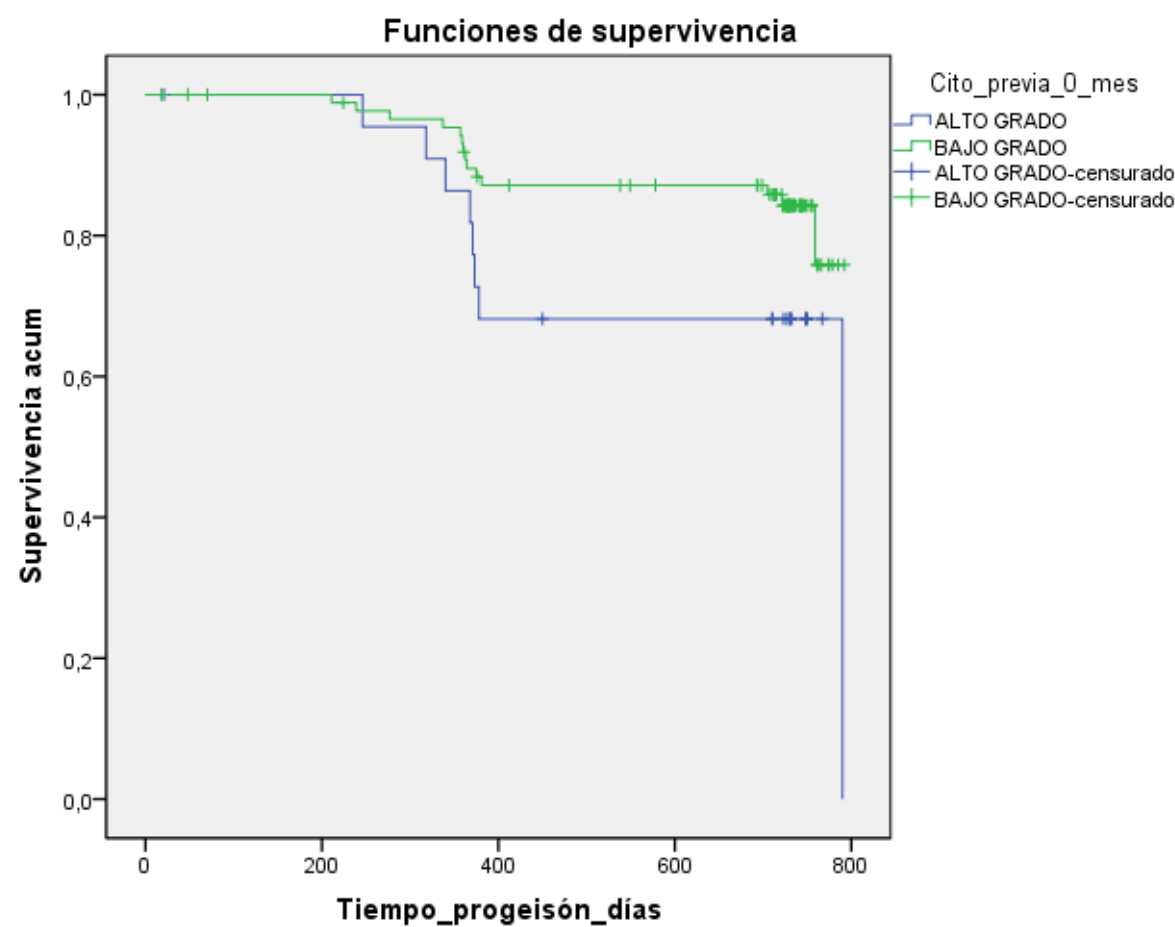


Gráfico 27. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos citología previa al inicio del estudio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Las diferencias se acercan a la significación estadística.

RESULTADOS

5.2.3.7.- VPH en el momento 0 mes.

Dividimos la población en tres subgrupos:

- **Ausencia** viral/virus **BR**.
- Virus de **AR/AR** y **BR**.
- Otros = **VPH-AR 16**; **VPH-AR 16** y **BR**; **VPH-AR 18**; **VPH-AR 18** y **BR**;
VPH-AR 16/18; **VPH-AR 16/18** y **BR**.

Resumen del procesamiento de los casos

HPV_0_mes_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Ausente/BR	36	3	33	91,7%
AR/AR y BR	51	10	41	80,4%
Otros	26	9	17	65,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 53. División de la muestra inicial en sub grupos GENOTIPO VPH en el momento 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	6,403	2	,041
Breslow (Generalized Wilcoxon)	5,355	2	,069

Tabla 54. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos genotipo VPH en el momento 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

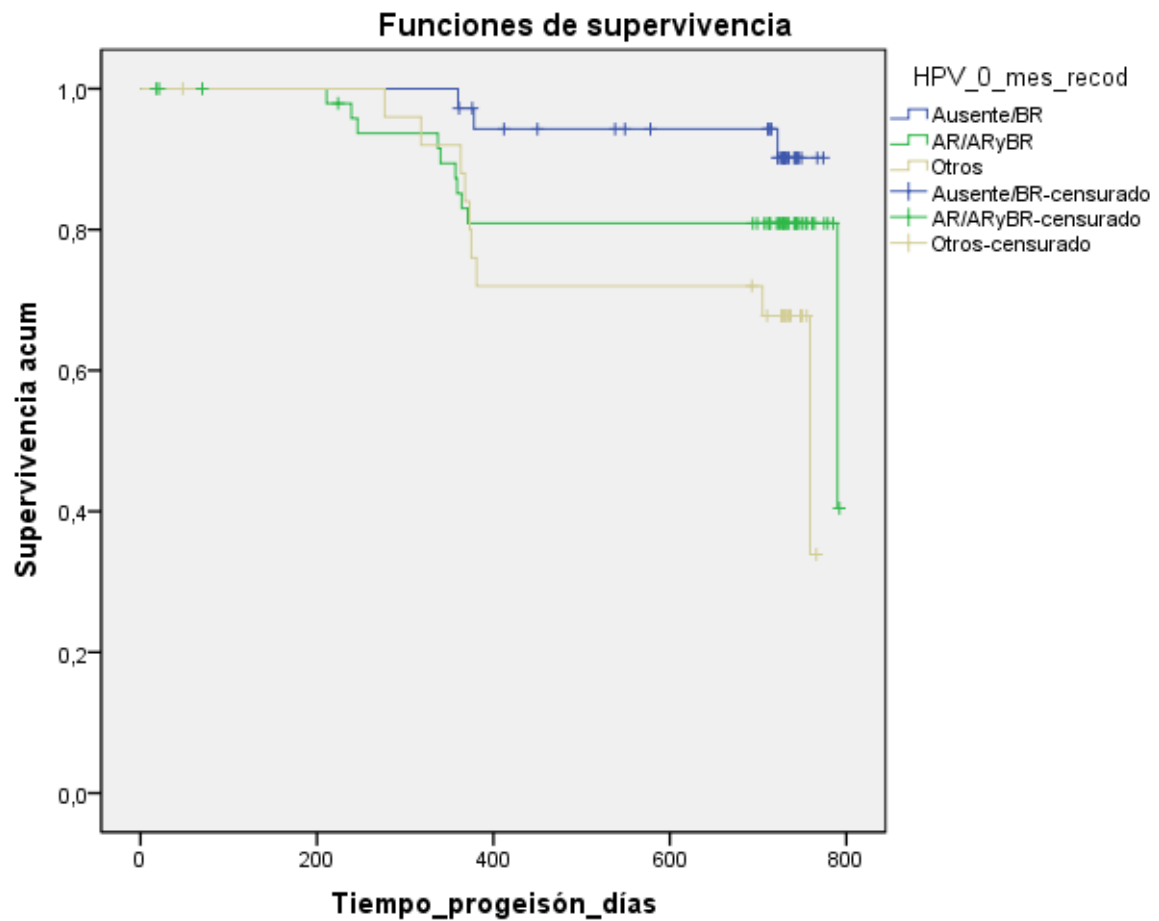


Gráfico 28. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos genotipo VPH en el momento 0 mes.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Aparecen diferencias significativas entre presentar virus de alto riesgo y no presentarlo, es decir, entre los grupos VPH –AR frente a AUSENCIA VIRAL/VPH-BR.

Por otra parte, las diferencias se acercan a la significación estadística cuando comparamos los grupos VPH-AR 16/18 frente a VPH-AR.

RESULTADOS

5.2.3.8.- Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Dividimos la población en dos subgrupos:

- P16 negativos.
- P16 positivos.

Resumen del procesamiento de los casos				
P16_0_Mes	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Negativo	69	14	55	79,7%
Positivo	44	8	36	81,8%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 55. División de la muestra inicial en sub grupos PROTEINA P16 al inicio del estudio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,010	1	,921

Tabla 56. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos proteína P16 al inicio del estudio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

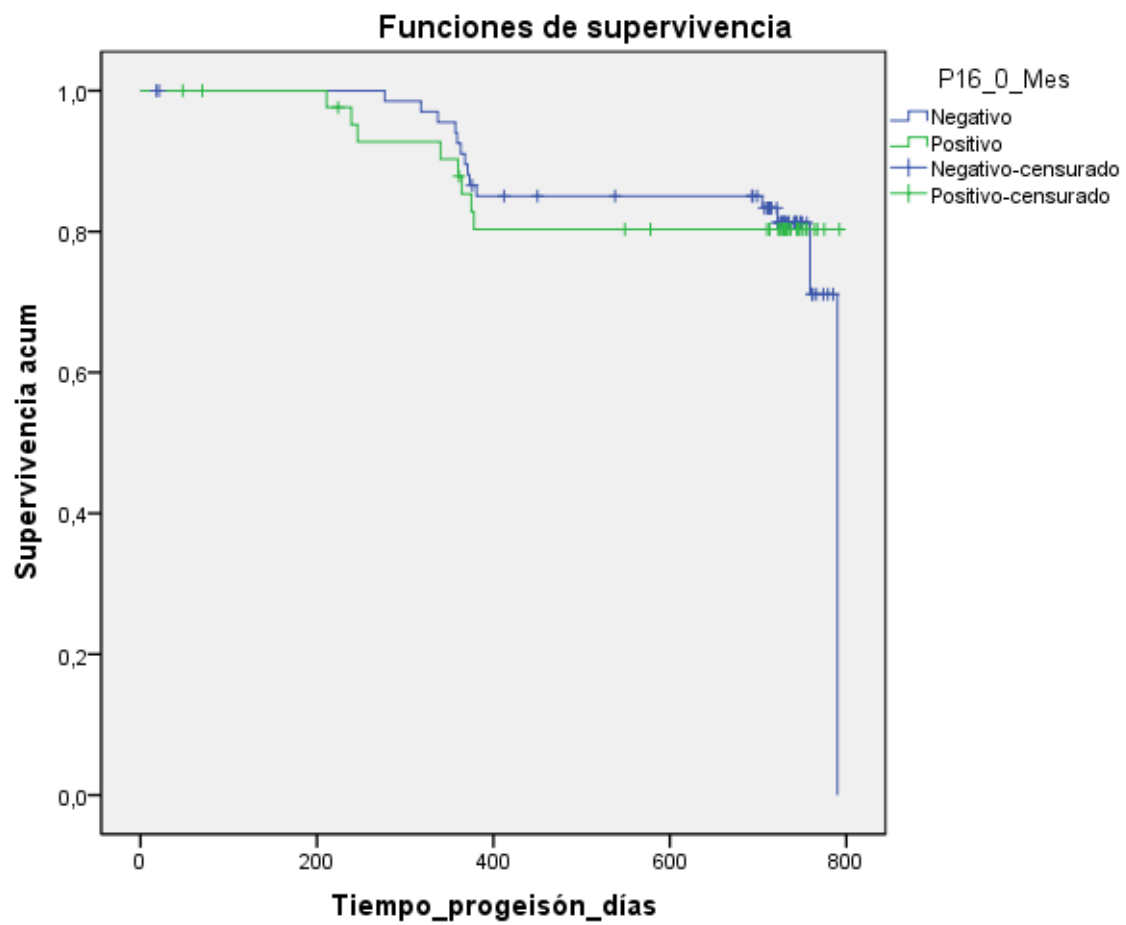


Gráfico 29. Curva de Función de Supervivencia (días) entre los subgrupos proteína P16 al inicio del estudio. Realizada por Juan Manuel Praena.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos.

RESULTADOS

- Función de riesgo: expresamos gráficamente el “**riesgo acumulado**” de que se produzca un **evento (H-SIL)**. Cuando aparece un evento, la curva sufre un “escalón” ascendente. Es destacable el ascenso que se produce en torno a los 12 meses de estudio. Las muescas verticales en la curva indican los pacientes censurados (abandonos).

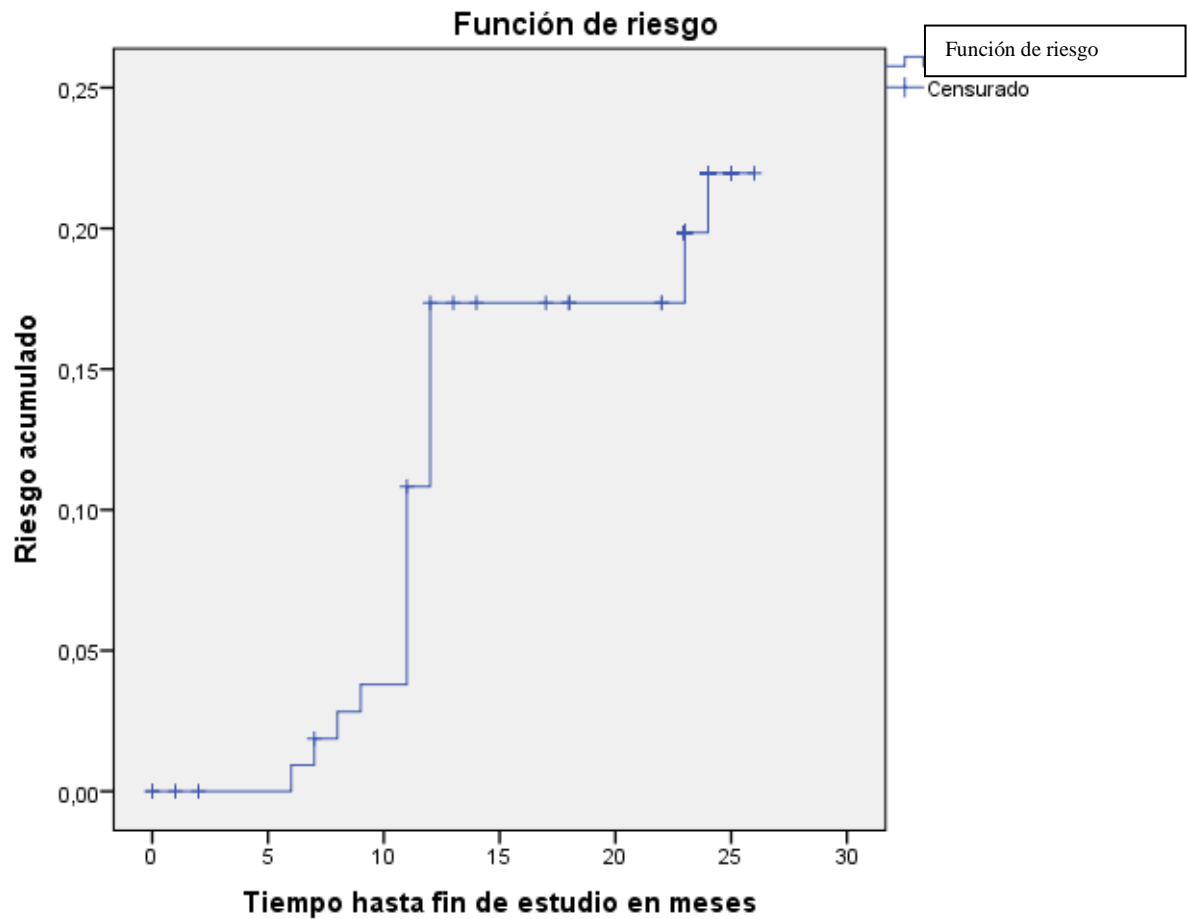


Gráfico 30. Curva de Función de Riesgo Global (meses).
Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

5.2.4.- Modelo de regresión de Cox.

En esta sección realizaremos un análisis multivariante, que se define como aquel análisis estadístico que considera tres o más variables simultáneamente. Los análisis multivariantes más comunes son los modelos de regresión (múltiple, logística, Cox y Poisson).

Así, los modelos de regresión intentan explicar un fenómeno de salud o enfermedad (lesión H-SIL; variable Y o dependiente) teniendo en cuenta varias variables simultáneamente (variables X o independientes o predictoras o factores de confusión: Edad, Métodos anticonceptivos, Virus del Papiloma humano al inicio, Cuadrantes afectados al inicio (colposcopia), Citología previa al inicio; P16 al inicio).

Como la variable dependiente es cualitativa dicotómica, utilizaremos la regresión logística, que viene a ser una extensión multivariable de la Ji Cuadrado.

La regresión de Cox o Proportional hazards model (Modelos de riesgos proporcionales), es una extensión multivariable de los métodos de Kaplan- Meier. Además, este modelo de regresión permite predecir las probabilidades de permanecer libre del evento (H-SIL) a partir del patrón de los valores que presenten sus variables pronósticas.

Antes de exponer los resultados, sería interesante aclarar el concepto de Hazard Ratio (HR) o **razón de riesgo** (Nota: en nuestros resultados, en el anexo estadístico, aparecerá reflejado en las tablas como **Exp (B)**). La HR indica si existe una relación entre una exposición y un evento en un tiempo “t”.

Si el valor de la HR es **superior a 1**, significa que la tasa de riesgo instantáneo es mayor en el grupo expuesto que en el de no expuestos.

Si su **valor es 1**, indicaría la igualdad de riesgo en ambos grupos.

Si fuera **inferior a 1**, correspondería a una exposición protectora.

A continuación recogemos nuestros resultados (Apartado 5.2.4.1), en el que hemos realizado genotipado viral, y lo comparamos con el estudio realizado por el hospital Clinic de Barcelona(242) (Apartado 5.2.4.2), donde no se ha analizado el genotipado viral.

RESULTADOS

5.2.4.1.- Modelos Univariantes de Cox.

5.2.4.1.1.- EDAD.

Es una variable independiente cuantitativa numérica.

La hemos categorizado y ordenado en 3 grupos:

- Pacientes de menos de 25 años.
- Pacientes con edad comprendida entre 25 y 30 años.
- Pacientes mayores de 30 años.

Obtenemos una p global de 0.502. Sin embargo, estratificando en grupos de edad, arrojan los siguientes resultados que se exponen en la tabla siguiente:

EDAD	p	HR	IC al 95%
< 25 años	0,530		
25 – 30 años	0,795	1,253	0,229 – 6,842
> 30 años	0,364	1,988	0,451 – 8,764

Tabla 57. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Edad.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

Esta variable independiente EDAD también podemos subdividirla en dos grupos:

- Pacientes menores de < 30 años.
- Pacientes mayores de ≥ 30 años.

En este caso obtenemos una p global de 0.387. Po tanto, agrupando por edad resulta:

EDAD	p	HR	IC al 95 %
≥ 30 años	0,399	1,511	0,579 – 3,943

Tabla 58. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Edad: pacientes ≥ 30 años.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

5.2.4.1.2.- MÉTODO ANTICONCEPTIVO.

Es una variable independiente cualitativa o categórica nominal.

La hemos clasificado en cuatro subgrupos:

- Métodos barrera.
- DIU (clásico y hormonado con LNG).
- Hormonal (oral, transdérmica y vaginal).
- Otros: (No uso de anticonceptivos, no especificado, coito interruptus, bloqueo tubárico, Essure y vasectomía)

Obtenemos una p global de 0,217. Pero si dividimos en subgrupos, tenemos los siguientes resultados que se recogen en la siguiente tabla:

MÉTODO ANTICONCEPTIVO	p	HR	IC al 95 %
Barrera	0,205		
DIU	0,633	1,660	0,208–13,278
Hormonal	0,417	1,733	0,460–6,534
Otros	0,032	2,923	1,095-7,802

Tabla 59. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Método Anticonceptivo.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

5.2.4.1.3.- VPH al inicio.

Es una variable independiente cualitativa o categórica.

La hemos clasificado en 3 subgrupos:

- Ausencia de virus o presencia de Virus de Bajo riesgo.
- Presencia de virus de alto riesgo, distintos a los genotipos 16 y 18.
- Presencia de virus de alto riesgo genotipos 16 y/o 18.

RESULTADOS

Codificaciones de variables categóricas				
		Frecuencia	(1)	(2)
VPH_0_mes_	0=Ausente/BR	36	0	0
	1=AR/AR y BR	51	1	0
	2=AR 16/18	26	0	1

Tabla 60. Tabla de codificación de variables VPH 0 mes.
Realizada por Juan Manuel Praena.

Obtenemos una p global de 0,080. Si dividimos en subgrupos obtenemos los siguientes resultados que recogemos en la siguiente tabla:

Variables en la ecuación							
						95,0% IC para Exp(B)	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior Superior
VPH_0_mes_			5,644	2	,059		
VPH_0_mes_(1)	,870	,669	1,692	1	,193	2,386	,644 8,848
VPH_0_mes_(2)	1,528	,667	5,251	1	,022	4,610	1,247 17,034

Tabla 61. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

VPH	p	HR	IC al 95 %
Ausencia viral o VPH de bajo riesgo	0,109		
VPH de alto riesgo No 16/18	0,183	2,430	0,658–8,978
VPH de alto riesgo 16/18	0,037	4,102	1,088–15,463

Tabla 62. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

Destacar que el intervalo de confianza al 95 % para el HR en el caso de VPH de alto riesgo 16/18 es superior a 1 siempre, por tanto la tasa de riesgo instantáneo es mayor en el grupo de expuestos.

RESULTADOS

También hemos clasificado a las pacientes en dos subgrupos:

- Pacientes sin infección por virus de alto riesgo (**Negativo**). En nuestro estudio incluye a las pacientes no infectadas o que presentan infección por virus de bajo riesgo.
- Pacientes infectadas por virus de alto riesgo (**Positivo**).

De esta forma arrojamamos los siguientes resultados:

La **p global** tiene un valor de **0,048**. El resto de resultados los recogemos en la siguiente tabla:

VPH al inicio	p	HR	IC al 95%
Positivo	0,079	3,007	0,881–10,264

Tabla 63. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH positivo, al inicio.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

5.2.4.1.4.- HALLAZGOS COLPOSCOPICOS al inicio.

Es una variable cualitativa nominal.

Hemos dividido en dos subgrupos:

- Colposcopia normal o cambios menores.
- Cambios mayores.

Recogemos una p global de 0,726.

COLPOSCOPIA	p	HR	IC al 95%
Cambios mayores	0,723	1,189	0,457–3,094

Tabla 64. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Hallazgos colposcópicos, al inicio.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

5.2.4.1.5.- NÚMERO DE CUADRANTES AFECTOS al inicio.

Es una variable cuantitativa discreta, pues sólo puede tomar números enteros.

Hemos dividido en dos subgrupos:

- Cuadrantes afectos 0 o 1.
- Cuadrantes afectos > 1.

Obtenemos una p global de 0.087.

Variables en la ecuación							95,0% IC para	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cuadrantes_afectos_0_mes_recod	,819	,479	2,923	1	,087	2,268	,887	5,799

Tabla 65. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Cuadrantes afectos al inicio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

5.2.4.1.6.- CITOLOGÍA al inicio del estudio.

Es una variable cualitativa o categórica, nominal.

Dividimos en dos subgrupos:

- Citologías de bajo grado: ASCUS y L-SIL.
- Citologías de alto grado: H-SIL, ASC-H, AGC.

Obtenemos los siguientes resultados. La p global tiene un valor de **0,066**. Se aproxima a la significación estadística.

El resto de datos se recogen en la tabla siguiente (Tabla 66).

RESULTADOS

Variables en la ecuación							95,0% IC para	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,824	,449	3,371	1	,066	2,279	,946	5,490

Tabla 66. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Citología, al inicio.
Realizada por Juan Manuel Praena.

5.2.4.1.7.- SOBRE EXPRESIÓN de la proteína P16, al inicio del estudio.

Es una variable categórica nominal.

La clasificamos en dos subgrupos, dependiendo de si sobre expresa o no la proteína P16:

- P16 negativa.
- P16 positiva.

Su análisis arroja los siguientes resultados. La p global es de 0,766. Considerando sólo el grupo que sobre expresa la proteína P16, resultan los datos que se exponen en la Tabla 67.

Proteína P16	P	HR	IC al 95 %
P 16 (+)	0,765	1,146	0,469–2,805

Tabla 67. Tabla de Modelo Univariante de Cox – P16, al inicio.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

5.2.4.2.- Modelos Multivariantes de Cox.

5.2.4.2.1.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/EDAD.

En este segundo apartado hemos considerado estas cuatro variables independientes:

- **Citología presente al inicio del estudio.** Según su resultado, las pacientes se dividieron en dos subgrupos:
 - citologías bajo grado (ASCUS/L-SIL)
 - citologías de alto grados (H-SIL/ASC-H/AGC)
- **Resultado de la proteína P16, al inicio del estudio.** Las pacientes se subdividieron en dos subgrupos:
 - sobre expresión de la proteína P16 (Positivas)
 - no sobre expresión de dicha proteína (Negativas).
- **Resultado de la infección por el virus del papiloma humano, al inicio del estudio.** También subdividimos a las pacientes en dos grupos:
 - Pacientes no infectadas por virus del papiloma humano o infectado por virus de bajo riesgo. (Negativas).
 - Pacientes infectadas por virus de alto riesgo. (Positivas).
- **Edad** de las pacientes. Dividimos el grupo edad en dos subgrupos:
 - Pacientes menores de 30 años.
 - Pacientes con edad igual o mayor a 30 años.

RESULTADOS

Los resultados fueron los siguientes. La p global arrojó un valor de 0.150.

El resto de datos se resumen en la tabla 68.

VARIABLES	p	HR	IC al 95%
CITOLOGÍA al inicio			
- Alto grado	0,269	1,721	0,657–4,509
P16 al inicio			
- Positiva	0,864	0,923	0,369–2,308
VPH - AR al inicio			
- Positivo	0,061	3,324	0,947–11,664
EDAD			
- ≥ 30 años	0,201	1,891	0,713–5,016

Tabla 68. Tabla de Modelo Multivariante de Cox – Citología alto grado, al inicio – P16, al inicio – VPH –AR, al inicio –Edad ≥ 30 años.

Realizada por Ana Fernández Palacín.

RESULTADOS

5.2.4.2.2.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/GENOTIPO VPH al inicio/EDAD/Nº de CUADRANTES AFECTOS al inicio.

En el siguiente apartado hemos realizado dos cambios. Por un lado hemos considerado la variable Independiente GENOTIPO viral VPH al inicio del estudio y por otro, la variable NÚMERO de CUADRATES afectos al inicio:

- **GENOTIPO VPH al inicio del estudio.**
 - Ausencia de infección VPH o Infección por VHP de Bajo riesgo.
 - Infección por virus VPH de AR e Infecciones por virus AR y BR.
 - Infecciones por virus VPH AR 16/18
- **Número de cuadrantes afectos, al inicio del estudio.**
 - Cuadrantes afectos 0 o 1.
 - Cuadrantes afectos > 1.

Codificaciones de variables categóricas				
		Frecuencia	(1)	(2)
Cito_previa_0_mes	1=ALTO GRADO	23	1	
	2=BAJO GRADO	90	0	
P16_0_Mes	1=Negativo	69	0	
	2=Positivo	44	1	
HPV_0_mes	0=Ausente/BR	36	0	0
	1=AR/AR y BR	51	1	0
	2=Otros	26	0	1
Cuadrantes_afectos_0_mes	0=0/1	50	0	
	1=>1	63	1	
Edad_	1=<=30	46	0	
	2=>30	67	1	

Tabla 69. Tabla de Codificación de Variables categóricas.
Realizada por Juan Manuel Praena.

RESULTADOS

Variables en la ecuación							95,0% IC para	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,773	,479	2,605	1	,107	2,167	,847	5,544
P16_0_Mes	-,254	,467	,297	1	,586	,775	,311	1,936
HPV_0_mes_			7,473	2	,024			
HPV_0_mes_(1)	1,069	,677	2,496	1	,114	2,912	,773	10,969
HPV_0_mes_(2)	1,833	,686	7,133	1	,008	6,252	1,629	24,001
Cuadrantes_afectos_0_mes	,972	,509	3,654	1	,056	2,644	,976	7,163
Edad	1,222	,504	5,882	1	,015	3,394	1,264	9,112

Tabla 70. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años.

Realizada por Juan Manuel Praena.

Destaca la **variable independiente VPH 16/18**. Es decir, la exposición a virus de alto riesgo 16/18 supone un **HR de 6,252** de progresar a lesiones de alto grado H-SIL, y ello es estadísticamente significativo, con una **p de 0,008**. Además, el intervalo de confianza al 95% presenta valores mayores de 1 (1,629 y 24,001), por tanto es una variable independiente de riesgo en todo momento.

En segundo lugar, destaca la **variable independiente edad > 30 años**. Arroja un **HR de 3,394** de progresar a H-SIL, con una **p de 0,015**, siendo estadísticamente significativa.

La **variable número de cuadrantes afectados > 1**, presenta un HR de 2,644, acercándose este riesgo a la significación estadística (**p = 0,056**).

La **variable P16 (+) al inicio del estudio** ofrece una HR de 0,775. Al ser un valor menor de 1, actuaría como factor protector, aunque el intervalo de confianza al 95% incluye valores mayores de 1 en su extremo superior (0,311–1,936).

Así, excepto la variable P16 (+) al inicio del estudio, el resto de variables independientes se comportan incrementando el riesgo de progresión a H-SIL, pues presentan un valor de HR mayor de 1.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

6.- DISCUSIÓN.

6.1.- Prevalencia vs Incidencia de L-SIL y su seguimiento.

6.1.1.- Baja Prevalencia de lesiones L-SIL en nuestro medio.

Derivado de las 44.736 citologías recogidas en nuestro centro, Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, durante los años 2004 a 2007, el L-SIL presenta una prevalencia en nuestro medio del **0,37%**. (En el año 2004: 0,43; en el año 2005: 0,24; en el año 2006: 0,42 y en el año 2007: 0,37).

Si comparamos nuestros resultados con la literatura publicada al respecto, observamos que Vilaplana et al. en el año 2007 publicaron una prevalencia del **1,20%**. (Mínimo de 0,26% y máximo de 1,90%).

La revista Progresos de Obstetricia y Ginecología (ISSN: 0304-5013), en su número extraordinario de septiembre 2014, Vol.57, analizó la carga de enfermedad cervical asociada al VPH (Virus del Papiloma Humano) en España. Así, de 12.836.899 de mujeres sexualmente activas, pertenecientes al grupo de edad de 25-65 años, las lesiones L-SIL tendrían una prevalencia de **1,2 a 1,3%**.

Por último, los datos del informe del *Cervical Screening Programme, England, 2013-14*, publicado el 25 de noviembre de 2014 en Reino Unido, sobre un total de 3.23 millones de mujeres testadas, de edad comprendida entre 25 y 64 años, el **1,8%** de las citologías realizadas resultaron ser L-SIL, tanto en los informes de 2011-12, 2012-13 y 2013-14.

Por tanto, podemos concluir, que la patología cervical L-SIL es poco prevalente en nuestro medio.

DISCUSIÓN

6.1.2.- Historia natural de las lesiones L-SIL.

Según nos avala la bibliografía, sabemos que entre el 26 y 70% de los L-SIL experimenta remisión clínica espontáneamente sin tratamiento. La mayoría de ellas ocurren en un periodo de 12 a 18 meses (21-23).

Como ya expusimos, hay que tener en cuenta que los datos aportados por la literatura, concernientes a la historia natural de las CIN I, son delicados en relación a su interpretación debido a las disparidades relacionadas con el tipo de estudio, prospectivo o retrospectivo, los criterios de inclusión de los pacientes, la duración del seguimiento, las distintas formas de control y las indicaciones de los tratamientos durante el seguimiento. Los porcentajes de remisión y progresión son, respectivamente del 33 y del 30%, en caso de realizar diagnóstico y control citológico, y del 48 y 12%, en caso de diagnóstico y control mediante biopsia dirigida (214). Entre el 26 y el 70% de los L-SIL remiten. Este porcentaje aumenta con la duración del control, pero la mayoría de las remisiones se observan en un periodo de 12 a 18 meses (19;21-23;215). Por el contrario, entre el 4 y el 43% de las CIN I progresan a lesiones de mayor grado.

6.1.3.- Reflexiones sobre la historia natural de las lesiones L-SIL.

En este contexto de prevalencia e historia natural arriba expuesto, quisimos controlar en nuestro estudio los casos prevalentes y los **casos incidentes de nueva aparición**. Así, revisamos el historial de controles cervicales de todas las pacientes incluidas en el estudio. Es decir, fiscalizamos las citologías realizadas en los últimos 5 años y/o las posibles pruebas diagnósticas y/o terapéuticas practicadas (colposcopias, biopsias cervicales, conizaciones, etc.).

Queríamos, con este planteamiento, seguir las lesiones **L-SIL “de novo”** durante **24 meses** y conocer así algo más de la historia natural y del comportamiento de ellas, para poder ajustar mejor los periodos de seguimientos de las pacientes.

DISCUSIÓN

Según nuestros datos, en el **66,37%** de las pacientes incluidas en el estudio pudimos obtener **datos de su historia de salud cervical** y en el 33,62% no fue posible, debido a que las pautas de seguimiento y los protocolos no habían sido consistentes.

Así, en el grupo de pacientes que progresaron a H-SIL, en el 31,82% no conocíamos su historial de patología cervical previo.

Sin embargo, en el estudio de **Cortecchia Ph. D. et al** (24), señaló que es imposible hacer en la práctica (243) la distinción de un **CIN incidente** (de reciente desarrollo) de un **CIN prevalente** (una enfermedad ya existente diagnosticada en línea de base).

Hay que tener en cuenta el **estudio ALTS** (244), el cual estima que la mayoría de CIN III casos diagnosticados dentro de los 2 años fueron casos prevalentes.

En un estudio de nuestra población realizado entre 2004 y 2007, de los 53 ASCUS hallados en la primera citología, aparecieron posteriormente a los 6 meses, en la 2ª citología y en la colposcopia-biopsia de cérvix, 4 H-SIL y 2 Ca Invasores. Ello supone un 11,3% (La bibliografía recoge el 5-15% (8)). Por tanto, un 11,3% de las citologías ASCUS “escondían” una lesión H-SIL.

Por otra parte, de 23 citologías L-SIL que detectamos en dicho estudio, en 2 de las 18 colposcopias biopsias realizadas apareció H-SIL. (Ello supone un 4,8%).

Podemos **concluir** que:

- Aunque las lesiones L-SIL son muy comunes dentro del grupo de lesiones preinvasoras del cáncer de cérvix, en nuestro medio son poco prevalentes (**0,37%**).
 - El filtro de inclusión, del análisis del historial previo de la patología cervical de las pacientes con lesión L-SIL, nos permite en cierto modo controlar qué lesiones H-SIL son prevalentes y cuales incidentes. Sólo en el **31.82%** de pacientes que progresaron a **H-SIL** no conocíamos su historial de patología cervical previo. Añadir, que de los 4 casos que progresaron a los 6 meses, en 3 de ellos no conocíamos sus antecedentes de lesiones cervicales. Podríamos pensar que ya pudieran estar presentes de forma prevalente en la línea de base.

DISCUSIÓN

6.2.-Variabilidad Inter/Intra observador e Infradiagnósticos H-SIL.

6.2.1.- Introducción.

Es conocida la variabilidad inter e intraobservador en el **diagnóstico microscópico morfológico** de las lesiones. Así, dicha **variabilidad inter e intraobservador** es una limitación inherente conocida del diagnóstico morfológico (31;206). **Sagasta et al** (242), comunican que un diagnóstico de HSIL en la re-evaluación se asoció con la progresión, lo que sugiere que estas mujeres ya tenían lesiones de alto grado y que habían sido infradiagnosticadas en la primera evaluación.

Jordi Genovés M.D. et al (245), afirman que el diagnóstico de **CIN II** es menos reproducible, con una **correlación interobservador** de alrededor de 50%, mientras que para CIN III esta correlación es de alrededor de 87% (97;205).

También se comenta la variabilidad inter-intraobservador en el artículo de **Pacchiarotti et al** (246), donde expresa la “**mala reproducibilidad inter e intra observador en la evaluación del grado CIN entre los patólogos**”. Además recoge, que las lesiones CIN I (L-SIL) presentan patrones de tinción inmunohistoquímica para P16 heterogéneos. Sin embargo, CIN II y CIN III son mucho más homogéneos con respecto a sus patrones de expresión de P16 en los que prácticamente todos los exhiben sobre expresión difusa de la proteína P16.

Así, como ya expusimos, en el año 2012, la *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* y el *College of American Pathologists* (31;209;210) propusieron las siguientes **recomendaciones para el uso de la técnica P16** en el diagnóstico histológico:

- Diagnóstico diferencial entre lesión precursora de alto grado H-SIL (CIN III) y entidades histológicas simuladoras como la metaplasia escamosa inmadura, atrofia, cambios epiteliales reparativos, corte tangencial, etc.
- Herramienta de decisión en los casos en los que existe desacuerdo entre los diferentes profesionales en la interpretación histológica y el diagnóstico diferencial con lesiones precursoras de alto grado. Por tanto, la determinación de la proteína P16 puede ser utilizada para el entrenamiento de nuevos patólogos con insuficiente experiencia en el diagnóstico de lesiones dudosas, y puede ser considerado como un sustituto de la revisión por un panel de expertos en la evaluación de casos de difícil diagnóstico.

DISCUSIÓN

- Diagnóstico diferencial entre L-SIL (CIN I) y H-SIL (CIN II-III). En el trabajo de **Sagasta A. et al**(242), se comenta que el punto de corte entre LSIL/CIN I y HSIL/CIN II es muy subjetivo. Por otra parte, la sobre expresión difusa de la proteína P16 (positividad), es una evidencia a favor de H-SIL mientras que la negatividad o la positividad focal, indican L-SIL o lesiones no relacionadas con VPH. Es conocido que la sobre expresión de P16 se asocia fuertemente con la severidad de la lesión, así se presenta en el 38% (IC 95% 23-53) de CIN I, 68% (IC 95% 44-92) de CIN II y el 82% (IC del 72% 95-92) de CIN III (247). En la Revista Española de Patología(188), se recogen los porcentajes de positividad histológica para P16 INK4a en lesiones de alto grado y en biopsias negativas, en diferentes trabajos publicados.

Estudio	Año	% de positividad de P16 INK4a para H-SIL (CIN II +)
Klaes et al	2002	100
Hariri y Osler	2007	100
Benevolo et al	2010	96
Ordi et al	2009	99
Galiano et al	2010	87

Tabla 71. Porcentaje de positividad de P16 INK4a para H-SIL, según distintos autores.

6.2.2.- Reflexiones sobre la variabilidad inter/intra observador.

- Por tanto, podemos afirmar que la determinación de la proteína P16, nos ayuda a disminuir la variabilidad inter e intraobservador y homogeneizar los diagnósticos histológicos emitidos. Actuaría **sustituyendo a un panel de expertos** en la evaluación de casos de difícil diagnóstico. Aun así, en los casos de disparidad de criterio, el equipo de patólogos de nuestro hospital los analizó en grupo. De los 22 casos que progresaron, se realizó colposcopia y biopsia previa a la conización en 21 pacientes. Se practicaron 29 biopsias de las cuales arrojaron los siguientes resultados: CIN I-II: 6; **CIN II: 19 (65,51%)**; CIN II-III: 1 y CIN III 3 casos.

DISCUSIÓN

- Además, reduciría los infradiagnósticos de lesiones de alto grado H-SIL. Es decir, disminuiríamos los casos falsos negativos. En nuestro estudio hemos constatado **2 casos falsos negativos**, es decir, lesiones H-SIL que no sobre expresaron la proteína P16. (Un caso fue un CIN II y el otro caso era un CIN I/II). Debemos tener en cuenta que **Kang et al**(181) describieron que el 35,7% y el 28% de casos de CIN II y CIN III, respectivamente, fueron negativos para la expresión de p16. Como ya comentamos en el apartado 2.4, mecanismos de acción de la proteína P16 INK4a, a través de mutaciones, delecciones, hipermetilaciones o silenciamiento epigenético del gen **CDKN2A**, pueden ocasionar una expresión reducida o ausente del producto de dicho gen, es decir, una **no** sobre expresión de la proteína P16 INK4a(161-168).
- Por otra parte, la determinación de la proteína P16 reduciría los casos falsos positivos relacionados con entidades simuladoras como la metaplasia escamosa inmadura, la atrofia, los cambios epiteliales reparativos, etc. Cabría mencionar el caso nº 1 de progresión, en el cual las dos biopsias cervicales practicadas previamente a la conización rezaba H-SIL (CIN II-III) con sobre expresión de la proteína P16 en ambas muestras. Sin embargo, el diagnóstico histológico de la conización (asa de diatermia) informaba de presencia de una lesión L-SIL. En este caso se revisaron reiteradamente, por distintos patólogos, las muestras de biopsias y de conización, confirmando los diagnósticos. Podíamos pensar que la lesión H-SIL se extirpó en su totalidad en un principio con la biopsia, por ello no estaba presente en la pieza de conización. No hemos registrado en nuestra casuística **ningún caso de falso positivo**.

La Revista Española de Patología(188), en el año 2012 recogía también los porcentajes de positividad histológica para P16 INK4a (P16 (+)) en biopsias negativas, en diferentes trabajos publicados.

Estudio	Año	% de positividad de P16 INK4a en Biopsias negativas
Klaes et al	2002	12
Hariri y Osler	2007	6
Benevolo et al	2010	19
Ordi et al	2009	0
Galiano et al	2010	5

Tabla 72. Porcentaje de positividad de P16 INK4a en Biopsias negativas, según distintos autores.

DISCUSIÓN

Podemos **concluir** que la realización de la **Prueba P16** en muestras histológicas de lesiones preinvasoras de cáncer de cérvix aporta una **mejora en la sensibilidad diagnóstica**, reduciendo la variabilidad intra/inter observador y disminuyendo los falsos positivos/negativos.

DISCUSIÓN

6.3.-Incidencias acumuladas para Citología e Histología de H-SIL.

6.3.1.- Incidencias acumuladas para Citologías de alto grado.

Como expusimos en el apartado 5.2.2.1 las Incidencias acumuladas de las citologías de alto grado (H-SIL y ASC-H) eran:

- 0 mes: 20,4%
- 6 meses: 33,9% (H-SIL: 27,5%; ASC-H: 6,4%)
- 12 meses: 28,8% (H-SIL: 25%; ASC-H: 3,8%).
- 24 meses: 31,3% (H-SIL: 30,1%; ASC-H: 1,2%)

Observamos dos picos de incidencia citológica acumulada a los 6 y 24 meses.

6.3.2.- Incidencias acumuladas para Histologías de alto grado.

Por otra parte, recogimos en el apartado 5.2.2.2 las Incidencias acumuladas de los diagnósticos histológicos H-SIL:

- 12 meses: 13,5% de H-SIL (frente al 52,9% de L-SIL).
- 24 meses: 3,6% de H-SIL (frente al 27,7% de L-SIL).

Respecto a la incidencia acumulada de los casos H-SIL histológicos, destaca el pico presente a los 12 meses.

Con estos resultados obtenemos información de la distribución de la patología cervical a lo largo del tiempo de estudio (24 meses). Es decir, queremos conocer las dos caras de la moneda ENFERMEDAD (H-SIL) vs periodo LIBRE DE ENFERMEDAD (No progresión a H.SIL).

Por tanto, podemos **concluir** que a los **12 meses** se produce un pico o concentración de enfermedad, lo cual nos es útil para diseñar protocolos de seguimiento de las lesiones preinvasoras L-SIL, centrando los controles a los 12 meses y pudiéndolos espaciar a partir de entonces.

DISCUSIÓN

6.4.- Método de KAPLAN–MEIER (Descripción de la supervivencia o ausencia de enfermedad).

Como presentamos en el apartado 5.2.3, para estimar la probabilidad de supervivencia individual (libre de enfermedad), acumulada a lo largo del tiempo, utilizamos el método de Kaplan – Meier.

Así, calculamos la **Función de supervivencia** (ausencia de enfermedad):

- Curva de Función de Supervivencia: expresamos gráficamente como va disminuyendo la probabilidad de sobrevivir (de estar libre de enfermedad) a medida que pasa el tiempo. Cuando ocurre un **evento (H-SIL)** se refleja en la curva como un escalón descendente. Como ya dijimos, las **censuras** (abandonos) se indican mediante pequeñas “muescas” o líneas perpendiculares a la curva.

DISCUSIÓN

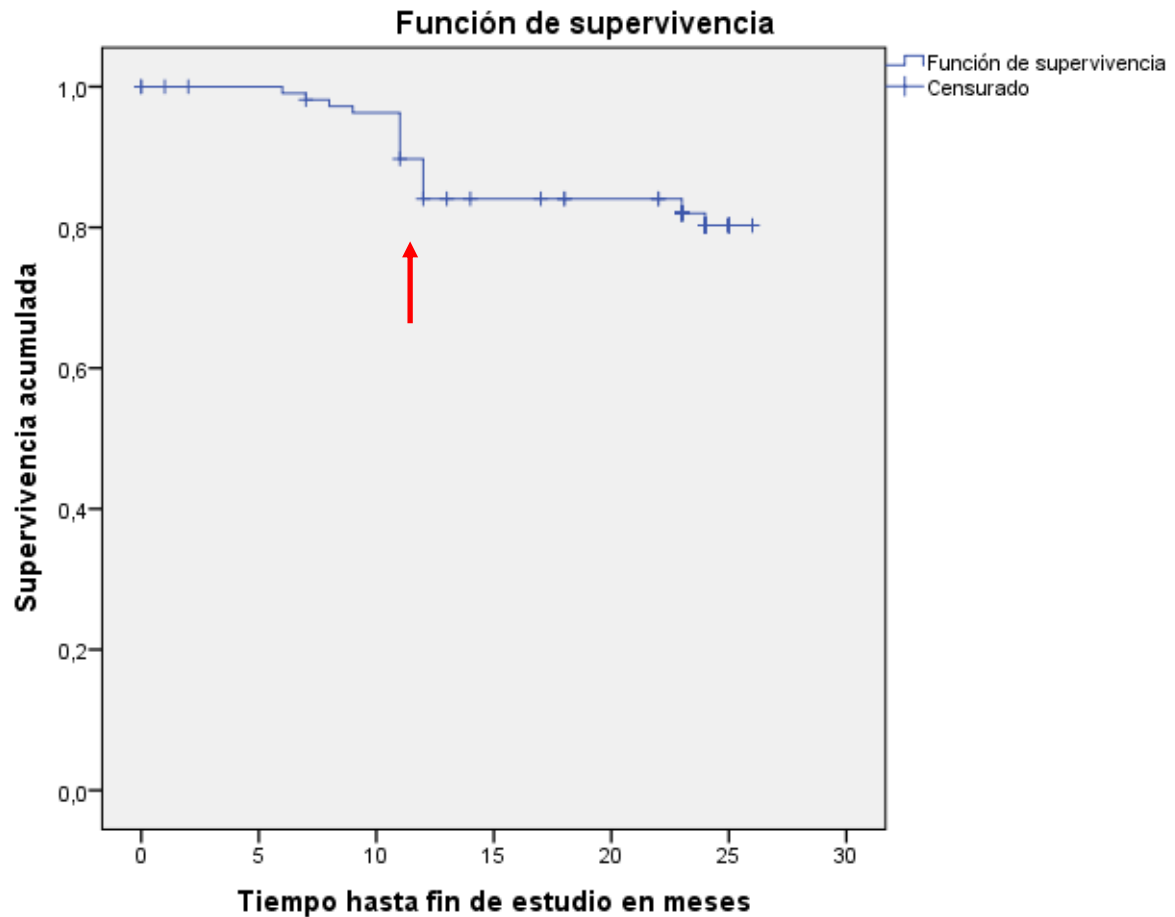


Gráfico 31. Curva de Función de Supervivencia Global_1 (meses).
Realizada por Ana Fernández Palacín.

Apreciamos como a los 12 meses de seguimiento del estudio cae la probabilidad de estar libre de enfermedad (Gráfico 31).

Por otra parte, analizamos la otra cara de la moneda, es decir, el riesgo de que se produzca el evento o la enfermedad, mediante la **Función de riesgo**:

- Función de riesgo: expresamos gráficamente el “**riesgo acumulado**” de que se produzca un **evento (H-SIL)**. Cuando aparece un evento, la curva sufre un escalón ascendente. Es destacable el ascenso que se produce en torno a los **12 meses** de estudio, imagen especular de la curva de función de supervivencia (Gráfico 32).

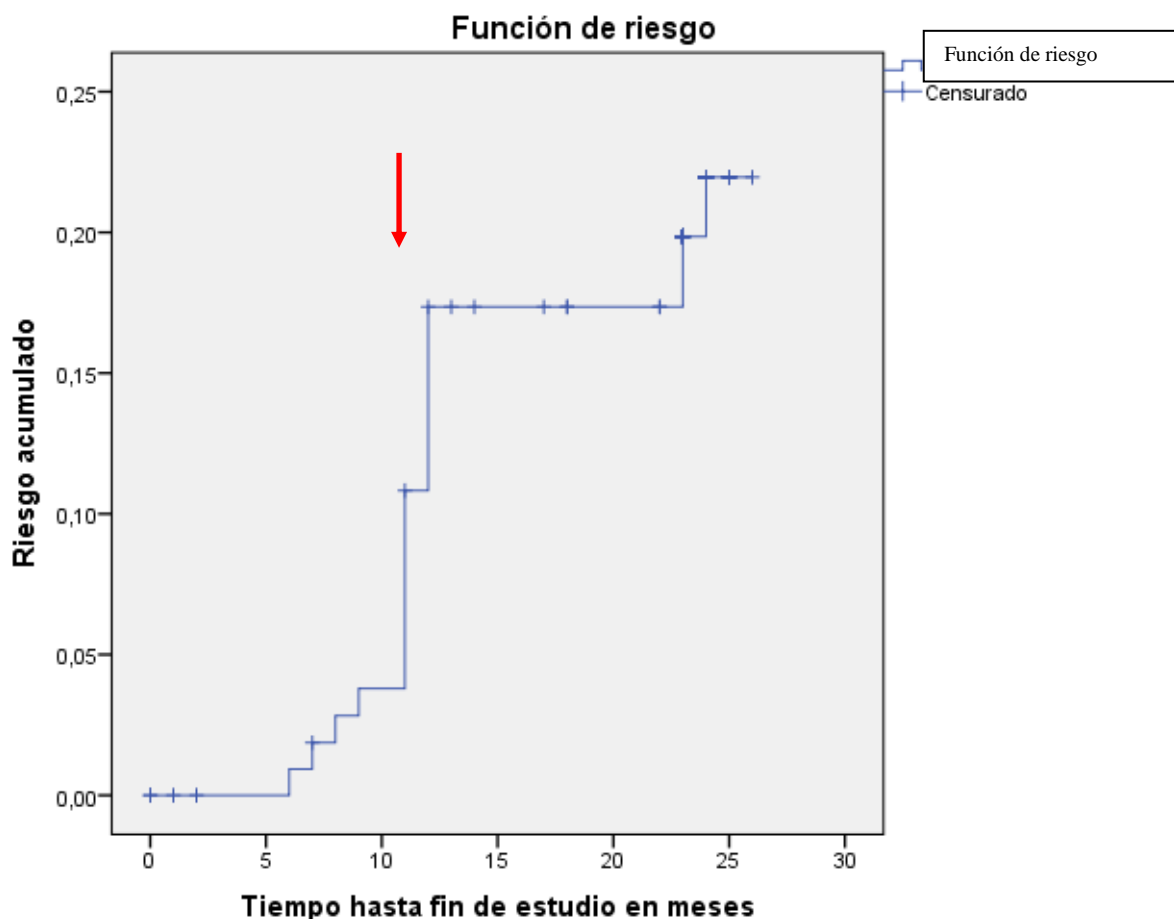


Gráfico 32. Curva de Función de Supervivencia Global_2 (días).
Realizada por Juan Manuel Praena.

- **Pacchiarotti et al** (248) recogen en su artículo “*Prognostic value of p16 INK4a protein in woman*”, donde realizaron un seguimiento de pacientes cuyo resultado histológico de biopsias de cérvix al inicio era L-SIL (124) y Normales (248), que de los 13 casos de H-SIL aparecidos durante el seguimiento, **Ocho** lesiones (**61,53%**) de **alto grado** se encontraron en el **primer año de seguimiento** (al inicio: cinco P16 negativo y dos P16 positivo y uno P16 inadecuado) y cinco lesiones de alto grado en el período posterior (una P16 inadecuada y cuatro P16 positivo en la línea base).

Además, expresaron en sus resultados que el **riesgo absoluto** entre pacientes **P16 positivas** era de 10,3% en comparación con el 2% de las pacientes P16 negativas. También mostraron que el **riesgo relativo de P16 positiva** en comparación con P16 negativo osciló entre casi **1** a **9**. Esta amplia diferencia podría explicarse por las diferencias en el diseño del estudio, en la interpretación subjetiva de la tinción de P16, y / o en el riesgo global de progresión.

DISCUSIÓN

Por tanto, **Pacchiarotti** plantea que ante el bajo **riesgo absoluto** de las mujeres **P16 negativas** y el largo tiempo necesario para desarrollar cáncer invasivo desde CIN II, puede permitirse un intervalo de seguimiento más largo de lo recomendado por las guías más recientes, para las mujeres negativas, es decir, el intervalo puede ser aumentado de 1 a 2 años. (Tiene en cuenta los 5 casos que progresaron a lo largo del seguimiento, con una P16 negativa al inicio).

- En **nuestro estudio**, de 113 pacientes L-SIL que comenzaron, 22 progresaron. De ellas, **14 (66,63%)** lo hicieron en el **primer año de control** (al inicio: 9 pacientes P16 negativas y 5 positivas). Hay que tener en cuenta que es sabido que la mayor parte de los H-SIL hallados en el seguimiento post colposcopia, ya estaba presente en el momento de la primera colposcopia(244).
- **Cortecchia Ph. D, et al** (24), comunican que la sobre expresión de P16 llevó a un aumento de 5,5 veces la tasa de progresión durante el **primer año de seguimiento**. Así, el 12,3% de las pacientes CIN I P16 (+) progresaron en el primer año, frente al 2,2% de las pacientes CIN I P16 (-) que también progresaron el primer año. En el segundo año los porcentajes fueron del 9,9 y 7,5%, respectivamente. En el tercer año los porcentajes recogidos fueron de 13 y 11.4% respectivamente. Suponiendo que el exceso de tasa de progresión a CIN II+ observada estaba relacionada con la sobre expresión de P16, los datos indicarían que el intervalo entre la detección de un CIN I que sobre expresan P16 y la progresión relacionada, es menos de 1 año.

Esto sugeriría que la progresión tiene una latencia corta y que la **sobreexpresión de p16** es, pues, un **evento tardío en la progresión**.

Salvo excepciones anecdóticas(249), sin embargo, la literatura indica lo contrario, es decir, que la sobre expresión de P16 se produce en una fase temprana(250) y que se necesitan acciones moleculares adicionales para desarrollar plenamente el potencial de progresión(208). En consecuencia, existen datos que sugieren que la sobre expresión de P16 puede preceder en años el desarrollo de CIN de alto grado(251;252).

Una alternativa para explicar la alta tasa de CIN II+ en el primer año de seguimiento es que hay que tener en cuenta, al menos en parte, las lesiones prevalentes.

Es decir, podemos plantearnos la duda entre las lesiones H-SIL prevalentes (ya presentes en el momento del estudio) y los nuevos casos H-SIL incidentes. Hay evidencia de que las evaluaciones sistemáticas de expertos(55;243) pueden perder una

DISCUSIÓN

enfermedad prevalente, como un área de CIN II+ con características colposcópicas indistintas, una lesión H-SIL no detectada en colposcopia desarrollada ya en la línea de base CIN I o en un sitio ectocervical diferente, un foco de CIN II+ que se encuentra en el canal endocervical y de difícil acceso con el dispositivo de biopsia y una CIN II+ infra diagnosticado por el informe del patólogo.

- En el estudio de **Carozzi et al**(253), se recoge que el riesgo acumulado de CIN III fue mucho mayor en mujeres P16 negativo VPH-positivo (2,0%) que en mujeres VPH negativos (0,01%). Estos hallazgos sugieren que, mujeres P16 negativo VPH positivas deben ser reexaminados antes que las mujeres VPH negativos (253).

Por tanto, podemos **concluir** que, mediante el Método de Kaplan–Meier, tanto la Curva de Función de Supervivencia como la de Función de Riesgo, muestran el momento 12 meses como el punto de concentración de progresión.

DISCUSIÓN

6.5.- Prevalencia de la positividad de la proteína P16.

- La sobre expresión inmunohistoquímica de la proteína P16 INK4a suele estar relacionada con la gravedad de la lesión cervical (73;97;150;179) y el grado de CIN (177;178;182;254;255). Entre el **22%** y el **88%** de las lesiones **CIN I** expresan P16 INK4a difusamente (55;177;182;247;254;256;257).
- **Klaes et al** (95) comunican un **61%** de inmunotinción fuerte y difusa de la proteína P16 en muestras histológicas CIN I (29 de 47 casos).
- En el estudio de **Liao et al** (258), se comunicó que la **prevalencia de la tinción P16 INK4a** en muestras histológicas fue del 2,7%, **42,7%**, 75,5%, 79,6% y 100% entre las mujeres con histología normal, **CIN I**, II, III y biopsias de cáncer, respectivamente ($p < 0,001$).
- **Cortecchia Ph. D. et al** (24), comunican un **29%** de positividad P16 en biopsias CIN I, frente al **38%** comunicado por **Tsoumpou I et al** (247).

Como ya se expuso anteriormente es conocido (247;248) que la **sobre expresión de P16** se asocia fuertemente con la severidad de la lesión cervical, así, aparece en el **38%** de **CIN I** (IC 95% 23-53), 68% de CIN II (IC 95% 44-92) y 82% de CIN III (IC del 72% 95-92).

- En **nuestro estudio** obtuvimos un **38,93%** de **positividad P16** en los 113 casos de lesiones L-SIL en el momento 0 mes del estudio (Tabla 73).

A los 12 meses recogimos un **17,07%** de positividad en lesiones L-SIL; 2 biopsias “falsos negativos” en lesiones H-SIL (CIN II y CIN I-II) y ninguna positividad en histologías normales (Ningún falso positivo respecto a histología normal).

A los 24 meses observamos un **15%** de positividad en lesiones L-SIL y un 75 de positividad en lesiones H-SIL.

Por tanto, fue descendiendo el porcentaje de positividad P16, a lo largo del tiempo de seguimiento, en las lesiones L-SIL. Además, ninguna histología normal sobre expresó la proteína P16 en todo el seguimiento del estudio.

DISCUSIÓN

Diagnóstico Colposcopia	0 mes (113 pacientes)		12 meses (104 pacientes)		24 meses (83 pacientes)	
	P16 (+) N %	P16 (-) N %	P16 (+) N %	P16 (-) N %	P16 (+) N %	P16 (-) N %
L-SIL	44 (38,93)	69 (61,06)	7 (17,07)	34 (82,92)	3 (15)	17 (85)
H-SIL			14 (100)	0	3 (75)	1 (25)
Normal			0	49 (100)	0	60 (100)

Tabla 73. Número y porcentajes de L-SIL, H-SIL y biopsias normales, a los 0, 12 y 24 meses, en relación con la sobre expresión de P16. (No se recogen en esta tabla los 4 casos que progresaron a los 6 meses).

En la siguiente tabla (Tabla 74) comparamos la positividad porcentual de la proteína P16, en el momento inicial del grupo general, respecto a los subgrupos de **progresión, persistencia y curación**.

Grupos	n	%	0 mes			
			P16 (+)		P16 (-)	
			n	%	n	%
Muestra Total	113	100	44	38,93	69	61,06
Progresión	22	19,46	8	7,08	14	12,38
Persistencia	60	53,09	23	20,35	37	32,74
Curación	19	16,81	7	6,19	12	10,62
Abandonos	12					

Tabla 74. Positividad de la Proteína P16 en el momento inicial y su relación con la Muestra total y los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

En los tres subgrupos es mayor el porcentaje de pacientes P16 (-) que positivos, en el momento 0 mes.

Llama la atención como un **12,38%** de pacientes P16 (-) al inicio del estudio progresaron.

Sin embargo, en el momento del diagnóstico de progresión, de las 22 pacientes que progresaron, en 20 casos (91%) la proteína P16 se sobre expresaba. En uno no se realizó biopsia (discordancia cito/colposcópica) y en el caso restante presentaba una

DISCUSIÓN

discordancia cito/histológica (Citología = ASC-H/AGC con Histología = L-SIL, P16 negativa).

De las **pacientes P16 (+)** del inicio, un 20,35% persistió, un **7,08%** progresó y un 6,19% curó.

De las **pacientes P16 (-)** del inicio, un 32,74% persistió, un **12,38%** progresó y un 10,62% curó.

En la siguiente tabla (Tabla 75) analizamos la sobre expresión de la proteína P16 a lo largo del seguimiento de estudio, con respecto de los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

	0 mes		6 mes		12 mes		24 mes		Total subgrupos
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	
	N / %	N / %	N / %	N / %	N / %	N / %	N / %	N / %	
Progresión	8 (36)	14 (64)	3 (100)	0	15 (83)	3 (17)	3 (75)	1 (25)	22
Persistencia	23 (38)	37 (62)			5 (8)	55 (92)	3 (5)	57 (95)	60
Curación	7 (37)	12 (63)			1 (5)	18 (95)	0	19 (100)	19
Total pacientes / tiempo	113		4		104		83		

Tabla 75. Sobre expresión de la proteína P16, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses, con respecto de los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

En el momento 0 del estudio, la proporción de P16 (-) es mayor respecto a P16 (+) en los 3 subgrupos: Progresión 64%/36%, Persistencia 62%/38% y Curación 63%/37%. A partir de este momento, en el sub grupo de progresión, se invierte la proporción de positividad a favor de P16 (+). Es decir, es muy superior el porcentaje de P16 (+) respecto a P16 (-) en los momentos 6 meses, 12 meses y 24 meses del seguimiento: 100%/0%, 83%/17% y 75%/25% respectivamente.

Sin embargo, en los sub grupos de persistencia y curación, se incrementan los porcentajes a favor de P16 (-) en los momentos 12 y 24 meses: Persistencia 98%/8% y Curación 95%/5% en el momento 12 meses; Persistencia 95%/5% y Curación 100%/0% a los 24 meses.

Por tanto, **podemos concluir** que el porcentaje de **positividad P16** se ha incrementado en el grupo de progresión y ha descendido en los subgrupos de persistencia y curación, a lo largo de los 24 meses de seguimiento.

DISCUSIÓN

En el apartado 5.1.6 expusimos las 7 pacientes que presentaban biopsias de cérvix P16 (+) y P16 (-) simultáneamente. En estos casos ha prevalecido la sobre expresión de la proteína P16 sobre la no expresión de la misma, en la valoración final. Por tanto, hemos catalogado a estas pacientes como P16 positivas cuando coincidían simultáneamente lesiones P16 positivas y negativas. En un momento determinado puede haber zonas del cuello del útero que sobre expresan la proteína P16 y otras no. Así, podríamos plantearnos estudiar como progresan estas zonas concretas del cuello de útero en vez de la valoración de las pacientes en su conjunto.

- Por otra parte hemos estudiado como se sobre expresa la proteína P16 en los **tres subgrupos de edades (< de 25 años; entre 25 y 30 años; > 30 años)**, en los meses 0, 12 y 24, como expusimos en el apartado 5.1.1, lo cual se recoge en la tabla 76.

Grupos de edad	0 mes (113 pacientes)		12 meses (104 pacientes)		24 meses (83 pacientes)	
	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)	P16 (+)	P16 (-)
< 25 años	9	10	3	12	0	15
25 – 30 años	8	18	5	15	1	21
> 30 años	27	41	13	56	5	41
Total (n/ %)	44 (38,93)	69 (61,06)	21 (20,19)	83 (79,80)	6 (7,22)	77 (92,77)

Tabla 76. Sobre expresión de la Proteína P16 en los 3 subgrupos de edad, a lo largo de 0, 12 y 24 meses de seguimiento.

Podemos observar que tanto los casos P16 (+) como los P16 (-) son más frecuentes en el subgrupo de pacientes mayores de 30 años. Resaltar que a los 24 meses, en el sub grupo de pacientes menores de 25 años, no se encontró ninguna paciente que sobre expresara la proteína P16. También apreciamos que la positividad de la proteína P16 va descendiendo con el tiempo de seguimiento, en los tres subgrupos de edad. Esto se puede explicar por los casos que progresan y expresan P16 (+) que van saliendo del seguimiento.

En el segundo **modelo de regresión multivariante de Cox** que realizamos, apartado 5.2.4.2.2, la edad > de 30 años suponía una variable de riesgo, con un **HR** de **3.39** y una **p** de **0,015**.

DISCUSIÓN

- **Liao et al**(258), comunicaron que el aumento de la edad media se asoció significativamente con la progresión de CIN y la gravedad de la lesión cervical ($p < 0,05$).

Mujeres con lesiones L-SIL de edad comprendida entre 21 y 24 años tienen un riesgo menor de CIN III, que mujeres mayores de 25 años(259;260).

- Sin embargo, En el estudio de **Pacchiarotti et al**(248), afirma que la **Prevalencia de p16 positividad** fue de **22%** en < 35 años y **10%** en los mayores de 35 ($p = 0.0008$).

Podemos **concluir** en este apartado:

- La sobre expresión de P16 en nuestras muestras L-SIL, en el momento 0 mes es del **38,93%**, descendiendo dicho porcentaje a lo largo de los meses de seguimiento.
- La sobre expresión de P16 se incrementa su porcentaje, durante el seguimiento, en el sub grupo de paciente que Progresaron y desciende en los subgrupos de Persistencia y Curación.
- En base a la historia natural de las lesiones L-SIL, con el paso del tiempo un porcentaje pequeño puede progresar a lesiones de alto grado H-SIL. Por tanto, la edad > 30 años es un factor de riesgo de progresión, teniendo en cuenta también las infecciones virales VPH persistentes en el tiempo. En nuestro estudio, a los **24 meses**, en el sub grupo de pacientes **menores de 25 años**, **ninguna sobre expresó la proteína P16**.

DISCUSIÓN

6.6.- Modificaciones epigenéticas del promotor del gen p16.

Ya en el apartado 2.4. recogimos la existencia de lesiones cervicales en las que no se sobre expresaba la proteína P16. La probable explicación podría ser el silenciamiento de la proteína P16 a través de **mecanismos epigenéticos** como la hipermetilación del promotor o por medio de los **mecanismos genéticos** tales como la eliminación o pérdida de heterocigosidad. Así, se han comunicado estudios donde se recogen casos de CIN de alto grado que no expresan P16 INK4a(177-180). Esta falta de inmunoreactividad se correlaciona con la hipermetilación del promotor. Los autores llegaron a la conclusión de que el silenciamiento de genes P16 durante el CIN no fue un evento raro y no se corresponde con cualquier estado de VPH o clasificación de CIN.

Recordemos que en nuestro estudio, **10,52%** (2 casos) de **H-SIL** (CIN II) no sobre expresaron la proteína P16 y el **61,06%** de los **L-SIL** (CIN I), en el momento inicial, tampoco.

- **Kang et al**(181). describieron que el 35,7% y el 28% de casos de CIN II y CIN III, respectivamente, fueron negativos para la expresión de P16.
- En el estudio de **Liao et al**(258), 13 casos de CIN II (24,5 %, 13/53) y 10 casos de CIN III (20,4%, 10/49) fueron P16 INK4a negativo, tal vez debido a la ausencia de infección por VPH.
- En el **15º Congreso Mundial de la IFCPC**, celebrado en Londres, en mayo del año 2014, el **Dr. Alba** expuso nuevos datos dentro del campo de la epigenética, como cambios presentes en la metilación del ADN del VPH, lo que podría contribuir a explicar el diferente comportamiento ante una infección por VPH en distintos pacientes. Así, la epigenética abre un nuevo horizonte en el conocimiento del virus del papiloma humano.

En **conclusión**, podemos decir que distintos mecanismos epigenéticos y genéticos pueden justificar que algunas lesiones H-SIL no sobre expresen la proteína P16, lo cual podría conllevar a un infradiagnóstico de las lesiones CIN II. Sin embargo, **nuestras cifras de no sobre expresión de la proteína P16 en lesiones H-SIL** son del **10,52%**, por debajo de las publicadas por distintos autores, que se encuentran entre el 20 y el 35%.

DISCUSIÓN

6.7.- Sensibilidad / Especificidad / VPP / VPN de la Prueba P16.

6.7.1.- P16 en muestras Citológicas.

El uso de P16 en la citología ha demostrado ser altamente sensible y específico para CIN II+ cuando se utiliza como prueba de filtro en citologías de bajo grado ASCUS/L-SIL(247) o para el screening de mujeres VPH-positivas(261) e incluso en el cribado primario, con el objetivo de **aumentar la especificidad** en la detección de **CIN II**(169).

La positividad anormal (falso positivo) para P16 se ha observado en el 1% de 108 citologías normales y en el 10% de 52 citologías LSIL(262).

- **Carozzi et al**(253), en su estudio recoge los siguientes resultados:
Sensibilidad Longitudinal de la **prueba P16** para la detección de CIN III o peor durante el seguimiento a 3 años, en todas las edades, fue **77,8%** (IC al 95% 63,9-91,6).
Hay que tener en cuenta que la determinación de la proteína P16, en este estudio, se realiza en pacientes infectadas por virus del papiloma humano de alto riesgo.
En el estudio de Carozzi, el uso de P16 en muestras citológicas(253), observó una **mejor sensibilidad en la citología que en histología** posiblemente debido a la mayor probabilidad de recoger por lo menos unas pocas células de la lesión por raspado de toda la zona de transición, en comparación con la biopsia guiada por colposcopia que recoge el tejido sólo desde una parte limitada del cuello del útero.
- En el estudio de **Tsoumpou et al**(247), donde se realizó una revisión sistemática y meta análisis de la prueba de inmunohistoquímica P16 INK4a en muestras citológicas e histológicas, arrojó los siguientes resultados en tomas citológicas. Entre los frotis normales, el 12% (IC del 95%: 7-17%) fueron positivos para el biomarcador P16 INK4a en comparación con el **45%** de ASCUS y **L-SIL** (IC del 95%: 35-54% y 37-57%, respectivamente) y el 89% de H-SIL frotis (IC 95%: 84-95%).

DISCUSIÓN

6.7.2.- P16 en muestras Histológicas.

- **Pacchiarotti et al**(248) comunican una **sensibilidad** del **46%** (con un intervalo de confianza IC al 95% de 19-75), atribuyendo esta baja sensibilidad a la también baja sensibilidad de la colposcopia/biopsia cervical guiada(263-266).
- **Maryam Razmpoosh et al**(267) comunizan que en su estudio obtienen una **sensibilidad** clínicamente útil de la prueba P16 INK4a del **83%**, con un **valor predictivo negativo** del 97,1% y una **especificidad** del **57%**.
- En el estudio de **Liao et al**(258), se comunicó una **sensibilidad** de la prueba **P16 INK4a IHC** del **85,7%**, (IC 95%: 42,2-97,6), siendo menor que la prueba de VPH (HC-2), sin embargo, la especificidad fue del 60,3% (IC del 95%: 51,2-68,9), mayor que la prueba VPH (HC-2) que resultó ser del 22,9% (IC del 95%: 15,7-31,5).
- **Del Pino, M. et al**(25), comunicaron una **sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo** (VPP) y **valor predictivo negativo** (VPN), para la progresión, de la tinción positiva de P16 INK4a, del **100%** (74,7-100), **49,2%** (26,7-71,7), **18,2%** (0-77,8), y **100%** (84,3-100), respectivamente.
- En el estudio de **Tsounpou et al**(247), donde se realizó una revisión sistemática y meta análisis de la prueba de inmunohistoquímica P16 INK4a en muestras citológicas e histológicas arrojó los siguientes resultados en muestras histológicas. En la histología sólo el 2% de las biopsias normales (IC del 95%: 0,4-30%) y **38%** de **CIN I** (IC 95%: 23-53%) mostró **tinción difusa de P16 INK4a** comparado con el 68% de CIN II (95% IC: 44-92%) y el 82% de CIN III (IC del 95%: 72-92%).
- En el estudio **Guanacaste**(252) se estudió, de forma retrospectiva, con la prueba P16 a un grupo de 292 mujeres, de las que se conocía el estado del VPH (mediante la técnica de tipificación viral HC2) y el diagnóstico final. La positividad difusa para P16 mostró una **sensibilidad** y una **especificidad** para **CIN III** del **100** y el **95%**, y para **CIN II** del **81,1** y el **95,4%**, respectivamente. El dato quizá más interesante de este estudio fue el seguimiento

DISCUSIÓN

durante 5-7 años de mujeres con diagnóstico inicial de LSIL. De las que mostraban positividad difusa de la P16 inicial, el 44% progresó a HSIL.

▪ En **nuestro estudio** obtuvimos los siguientes resultados globales:

- **SENSIBILIDAD:** 100% (IC 95%: 81,6%-100%).
- **ESPECIFICIDAD:** 80,9% (IC 95%: 75,9%-85,1%).
- **VPP:** 23,9% (IC 95%: 15,5%-35%).
- **VPN:** 100% (IC 95%: 98,4%-100%).
- **Proporción FP:** 19,1% (IC 95%: 14,9%-24,1%).
- **Proporción FN:** 0.0% (IC 95%: 0,0%-18,4%).
- **EXACTITUD:** 82% (IC 95%: 77,3%-85,9%).

(VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; FP: Falsos Positivos; FN: Falsos Negativos.)

Estos resultados están referidos a la relación establecida entre el diagnóstico Histológico de la paciente (prevaleciendo el diagnóstico histológico de mayor entidad entre las distintas biopsias realizadas) y el resultado P16 (sabiendo que tiene dominancia el valor positivo frente a negativo si hubiese lesiones P16 positivas y negativas).

Posteriormente analizamos la Sensibilidad y Especificidad a los 12 y 24 meses.

▪ A los 12 meses:

Para una prevalencia de 0,1786 y teniendo en cuenta un % de H-SIL (respecto del total de biopsias realizadas), de un **6,45%** de H-SIL, obtenemos los siguientes valores:

- Sensibilidad: 88,24% con IC al 95% (63,56–98,54).
- Especificidad: 93,10% con IC al 95% (85,59–97,43).

▪ A los 24 meses:

Para una prevalencia de 0,1786 y teniendo en cuenta un % de H-SIL (respecto del total de biopsias realizadas), de un **6,45%** de H-SIL, obtenemos los siguientes valores:

- Sensibilidad: 100 % con IC al 95% (29,24–100)
- Especificidad: 96,25 con IC al 95% (89,43–99,22)

DISCUSIÓN

Autores	n	% H-SIL	% P16 (+)	Sensibilidad	Especificidad
Hariri 2007	91	26	71	96	37
Del Pino 2009	138	10	56	100	49
Ozaki 2011	99	7	43	86	60
Cortecchia 2013	610	9	31	59	72
Liao 2014	133	5	42	86	60
Pacchiarotti 2014	113	7	51	75	50
Mills 2015	524	12	47	59	54
Sagasta 2016	507	17	48	71	56
Nuestro estudio	113	6.45	40	100	80

Tabla 77. Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para H-SIL, recogida por diferentes autores.
Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para H-SIL, recogida por diferentes autores.

Autores (Referencia bibliográfica)	Año	Para CIN II		Para CIN III	
		Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
Klaes et al (97)	2002	100%	71%	100%	62%
Wang et al (194)	2004	81%	95%	100%	95%
Hariri y Oster (55)	2007	100%	72%		
Kong et al (192)	2007	82%	100%		
Ordi et al (193)	2009	99%	89%		
Benevolo et al (189)	2010	96%	66%		
Galgano et al (190)	2010	87%	83%	99%	74%
Guo et al (191)	2011	79%	85%	90%	71%

Tabla 78. Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para CIN II / III, recogida por diferentes autores.
Sensibilidad y Especificidad de la Prueba P16, para CIN II / III, recogida por diferentes autores.

Analizando la tabla 78, podemos apreciar mayor sensibilidad para CIN III que para CIN II. Sin embargo, ocurre lo contrario con la especificidad. Es decir, es mayor para CIN II que para CIN III.

DISCUSIÓN

Podemos **concluir** en este apartado que aunque las cifras de **sensibilidad** de la **prueba P16 en muestras histológicas** en nuestro estudio son altas, en torno al 88%-100%, la realización de la técnica en muestras de citología aumentaría la sensibilidad, pues con el cepillado del cérvix obtenemos muestras celulares de toda su superficie.

DISCUSIÓN

6.8.- Sensibilidad / Especificidad/ VPP/VPN de la Colposcopia.

6.8.1.- Consideraciones sobre las Imágenes colposcópicas.

- En un estudio realizado por **Hammes et al, 2007**(268), se valoró la significación histológica de cada una de las distintas imágenes colposcópicas, la distribución topográfica y el tamaño de las mismas, en una serie de 3.040 pacientes con citología de cribado anormal. Así, los hallazgos clasificados como “cambios mayores o grado 2” tuvieron el mayor valor predictivo positivo (VPP) para neoplasia intraepitelial cervical grado 2 (CIN II+): epitelio acetoblanco denso (73,7%); vasos atípicos (62,5%); punteado grosero (53,8%); mosaico grosero (33,3%).

Los “cambios menores o grado 1” obtuvieron un VPP bajo para CIN II+: epitelio acetoblanco plano (7,4%); mosaico fino (2,4%) y punteado fino (1,7%). Ni la positividad parcial o la negatividad al yodo, como hallazgos únicos, se relacionaron con ninguna lesión.

Sin embargo, cambios colposcópicos etiquetados como hallazgos varios o misceláneos, presentaron un VPP considerable para CIN II+: condilomas (37,5%) y queratosis (25%). La localización de la lesión dentro de la zona de transformación fue un predictor significativo para CIN II+ (OR: 8,60; IC 95%, 1,2-63,4), así como también resultó ser un predictor independiente en el análisis multivariado.

El tamaño de la lesión resultó ser otro predictor significativo de mayor grado lesional. Así, las lesiones colposcópicas con un tamaño superior al 50% o al 75% de la superficie del exocervix, tenían una mayor probabilidad de corresponder a CIN II+, en comparación con las lesiones más pequeñas. Estos resultados concuerdan con los descritos previamente por otros autores(241;269), sobre el significado de la extensión y topografía de las lesiones cervicales.

- **Van der Marel J, et al**(69), informaban en su artículo que el aspecto visual de la colposcopia que presenta HPV-AR 16 y CIN II+ no era diferente de las lesiones colposcópicas relacionadas con otros tipos virales VPH-AR. Por tanto, el genotipo 16 VPH-AR no aporta características colposcópicas específicas.

DISCUSIÓN

- En **nuestro estudio** (Tabla 79), las lesiones centrales predominaron sobre las periféricas, en todos los momentos del seguimiento: 0 mes, 6, 12 y 24 meses. Así, al inicio, el **91,15%** de las lesiones fueron **centrales**, frente al 4,42% de las periféricas. A los 6 meses, el **75%** de las lesiones son centrales y en un caso no queda recogido en la historia. A los 12 meses, el **81,73%** eran lesiones centrales, frente al 3,4% de las periféricas. Por último, a los 24 meses, el **38,55%** de las colposcopias presentaban lesiones centrales, frente al 1,2% de las periféricas.

Las lesiones centrales van descendiendo en frecuencia a medida que nos acercamos a los 24 meses.

Las lesiones periféricas también van decreciendo en frecuencia hasta los 24 meses. Ninguna lesión periférica única presentó progresión.

Las localizaciones mixtas (periféricas y centrales) se incrementan desde el 0,88% en el momento 0 mes del estudio, hasta el 6,73% a los 12 meses y el 6,02% a los 24.

Un caso de progresión presentó una lesión mixta: central/periférica. Así, resultó ser: lesión central con el diagnóstico de H-SIL y la lesión periférica L-SIL.

Las colposcopias normales se incrementaron a lo largo del seguimiento. Así, estaba presente en el **1,76%** en el momento 0 mes y se incrementó al **53,01%** a los 24 meses.

Localización Lesión	0 mes 113 colposcopias	6 mes 4 colposcopias	12 meses 104 colposcopias	24 meses 83 colposcopias
	N , %	N , %	N , %	N , %
Central	103 91,15	3 75	85 81,73	32 38,55
Periférica	5 4,42	0 0	4 3,84	1 1,20
Ambas	1 0,88	0 0	7 6,73	5 6,02
No lesión	2 1,76	0 0	8 7,69	44 53,01
No definido	2 1,76	1 25	0 0	1 1,20

Tabla 79. Prevalencia de lesiones centrales, periféricas y mixtas, en los momentos 0, 6, 12 y 24 meses del estudio.

DISCUSIÓN

Respecto al tamaño de las lesiones o número de cuadrantes afectados (Tabla 80), nuestras pacientes arrojaron los siguientes resultados:

Subgrupos	0 mes					12 meses					24 meses					Total subgrupos
	% cuadrantes afectos					% cuadrantes afectos					% cuadrantes afectos					
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	
Progresión	0	27	41	18	14	0	11	50	17	22	25	0	50	0	25	22
Persistencia	8	23	51	13	3	8	23	52	13	3	42	7	33	17	2	60
Curación	0	38	37	0	5	10	47	37	5	0	0	0	0	0	0	19

Tabla 80. Porcentajes de cuadrantes afectados en los momentos 0, 12 y 24 meses del estudio, con respecto a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación.

Podemos comprobar que la afectación de los **4 cuadrantes** es más frecuente en el grupo que progresó que en el grupo que curó. Ello ocurre en los momentos 0, 12 y 24 meses del estudio (Tabla 80).

Destacar que a los 24 meses aparece una paciente que progresó y presentaba una colposcopia normal. Este caso fue diagnosticado de discordancia cito/histológica, es decir, una citología donde rezaba ASC-H/AGC y dos biopsias en las que se descartaba la displasia.

En los tres subgrupos, predomina la afectación de 2 cuadrantes, excepto en el subgrupo de curación, que a los 12 meses predomina la afectación de 1 cuadrante y en subgrupo de persistencia, a los 24 meses, que predomina ningún cuadrante afecto.

Recordemos el apartado 5.2.3.4 cuando estudiamos la Función de Supervivencia (Modelo de Kaplan–Meier) comparando afectación de 0/1 cuadrante frente a la afectación de más de 1 cuadrantes. Las diferencias se acercaban a la significación estadística.

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3,090	1	,079

Tabla 81. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos n° cuadrantes afectados. (Nota: ver Tabla 48).

Realizada por Juan Manuel Praena.

DISCUSIÓN

En el apartado 5.2.4.1.5, en el que considerábamos el Modelo Univariante de Cox respecto a la variable **número de cuadrantes cervicales afectados** al inicio del estudio, obteníamos una p global de 0,087, la cual se acercaba a la significación estadística (Tabla 82 y 65).

Variables en la ecuación							95,0% IC para Exp(B)	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Cuadrantes_afectos_0_mes_recod	,819	,479	2,923	1	,087	2,268	,887	5,799

Tabla 82. Tabla de Modelo Univariante de Cox – Cuadrantes afectados al inicio. (Nota: ver tabla 65).
Realizada por Juan Manuel Praena.

Por último, en el Modelo Multivariante de Cox, en el considerábamos las variables Citología al inicio, P16 al inicio, Genotipo viral al inicio, Edad y Número de cuadrantes afectados, la **variable número de cuadrantes afectados > 1**, presenta un **HR** de 2,644, acercándose este riesgo a la significación estadística (**p = 0,056**) (Tabla 83 y 70).

Variables en la ecuación							95,0% IC para Exp(B)	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,773	,479	2,605	1	,107	2,167	,847	5,544
P16_0_Mes	-,254	,467	,297	1	,586	,775	,311	1,936
HPV_0_mes_			7,473	2	,024			
HPV_0_mes_(1)	1,069	,677	2,496	1	,114	2,912	,773	10,969
HPV_0_mes_(2)	1,833	,686	7,133	1	,008	6,252	1,629	24,001
Cuadrantes_afectos_0_mes	,972	,509	3,654	1	,056	2,644	,976	7,163
Edad	1,222	,504	5,882	1	,015	3,394	1,264	9,112

Tabla 83. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años. (Nota: ver tabla 70).
Realizada por Juan Manuel Praena.

DISCUSIÓN

6.8.2.- Consideraciones sobre la valoración diagnóstica de la colposcopia y de la biopsia dirigida.

- En general, la colposcopia tiene una **sensibilidad** del **50-70%** para detectar lesiones de alto grado y carcinoma de cérvix invasor (ICC)(264;265;270;271).
- **Zuchna, C. et al**(272), en un estudio multicéntrico, prospectivo, en el que comparan las biopsias cervicales dirigidas mediante colposcopia y la pieza de conización, realizadas simultáneamente, arrojan una **sensibilidad**, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de **66,2%** (intervalo de confianza del 95% [IC]: 59,4-72,3), 95% (IC 95%, 83,5-98,6), el 98,5% (IC 95%, 94,8-99,6), y el 35,5% (IC del 95%, 27,1-44,9), respectivamente. Por tanto, concluyen que las lesiones de alto grado (H-SIL), sospechadas por citología, pueden ser confirmadas por biopsia cervical en muchos casos, pero no pueden ser excluidas.
- Un metaanálisis de nueve publicaciones realizado por **Mitchell et al**(265), 1998, valoró la exactitud diagnóstica de la **colposcopia con biopsia**. Para diferenciar el epitelio normal del que presenta cualquier anomalía, la colposcopia-biopsia ofrece una elevada **sensibilidad 95 %**; (IC 95%; 87-99), pero una baja especificidad 45%; (IC 95%; 23-87). La especificidad mejora cuando se realiza el corte entre cuello uterino normal –LSIL frente a CIN II-III – carcinoma, 67%; (IC 95%; 30-93), presentando una reducción de la **sensibilidad 79%**; (IC 95%; 64-99).
- Recientemente se ha publicado una revisión sistemática de 32 estudios(273), que incluye 7.873 resultados emparejados de biopsia dirigida por colposcopia/histología definitiva de una pieza de exéresis cervical o histerectomía. El metaanálisis de 4 estudios en los que el diagnóstico histológico de la exéresis se realizó inmediatamente después de la biopsia dirigida por colposcopia evidenció que la **sensibilidad** de la biopsia dirigida con resultado de CIN I+ para detectar lesiones CIN II+ fue de un **81,4%** (IC 95%, 77,6–85,1) y la especificidad de 63,3% (IC 95 %, 49,2–77,4).

DISCUSIÓN

- La **sensibilidad** de la **colposcopia-biopsia** aumenta significativamente cuando se toman dos o más biopsias, en lugar de una ($p < 0.01$). La frecuencia con la que los colposcopistas toman dos o más biopsias en vez de una varía según el profesional (clasificados de mayor a menor número de biopsias, se hallan: enfermeras colposcopistas, ginecólogos generales, residentes de ginecología oncológica y ginecólogos oncólogos) ($p < 0.01$)(274).
- También, **Gage, J.C et al**(274), comunicaron que tomando más biopsias aumentaba sustancialmente la detección de CIN III; así, múltiples biopsias tomadas en el momento de la colposcopia inicial podría ser preferible a la alternativa de 1 biopsia de la zona más sospechosa. Por tanto, ello reduciría las lesiones H-SIL ocultas, ya prevalentes al inicio del seguimiento.
- Así, ante los datos expuestos arriba, la **colposcopia con biopsia dirigida** se consolida como la técnica de elección para diagnosticar y orientar el manejo de las lesiones intraepiteliales del cuello uterino. La colposcopia es muy sensible para la detección de lesiones precursoras del cáncer del cuello uterino, sin embargo es poco específica, puesto que no siempre las imágenes colposcópicas anormales se corresponden con lesiones intraepiteliales. En necesario una formación específica en patología del tracto genital inferior y colposcopia, tanto desde el punto de vista teórico como práctico, para que dicha técnica alcance el grado máximo de eficacia y seguridad(275).
- En el artículo de **Sagasta, A. et al**(276), afirma que la toma de biopsias cervicales guiadas con colposcopia podría no diagnosticar lesiones subyacentes HSIL/CIN II-III en la evaluación inicial en una proporción de mujeres. A pesar de sus posibles limitaciones, la colposcopia se considera actualmente el estándar de oro para guiar el muestreo de biopsia en estos pacientes(276;277).
- Hay que tener en cuenta que es sabido que la mayor parte de los H-SIL hallados en el seguimiento postcolposcopia, ya estaban presente en el momento de la primera colposcopia(244). Uno de cada 4 pacientes con displasia leve en la biopsia dirigida puede tener lesiones de alto grado que se encuentran en las muestras de escisión(278-281).

DISCUSIÓN

- Recordemos que **Pacchiarotti et al**(248) comunicaban una sensibilidad de la prueba P16 en histología, del 50%, atribuyendo esta baja sensibilidad a la también baja **sensibilidad de la colposcopia/biopsia** cervical guiada(263-266).
- La lesión de alto grado, precáncer cervical, tiene que crecer a un tamaño determinado antes de que sea detectable durante la colposcopia. Así, el desarrollo de la ICC (*Intraepitelial Cervical Cáncer*) desde CIN III se asocia con un gran tamaño de la lesión (239;282).
- **Wentzensen et al**(283), observaron una diferencia de tamaño de las lesiones CIN II entre las mujeres con VPH 16 y otros tipos, pero no en CIN III.
- Como no hay debate en cuanto a la exactitud de la colposcopia en **mujeres vacunadas** contra el VPH 16 y 18, el estudio “*The impact of human papillomavirus genotype on colposcopic appearance: a cross-sectorial analysis*”(69;235), muestra que el rendimiento de la colposcopia es similar para cualquier mujer VPH-AR de tipo positivo.
- **Bornstein J, et al**(231), utilizando la Nomenclatura de la IFCPC 2011, obtuvieron una **sensibilidad del 61%** y una **especificidad del 94%** (Tabla 84).

Estudios	Sensibilidad	Especificidad
Mitchell MF et al (265)	96 (IC: 87–99%)	48 (IC: 23-67%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Massad LS et al (277) ▪ Pretorius RG, et all (284) ▪ Gage JC et all (274) 	55% (Sensibilidad para H-SIL)	
• Bornstein J,et all .(Nomenclatura Colposcópica IFCPC -2011) (231)	61%	94%

Tabla 84. Sensibilidad y Especificidad de la Colposcopia, según diferentes autores.

DISCUSIÓN

- En **nuestro servicio**, estudiamos 201 colposcopias realizadas en el periodo comprendido desde el uno de octubre de 2011 al uno de octubre de 2012. La nomenclatura que se utilizó fue la de Barcelona 2002. Las colposcopias fueron realizadas por los 8 miembros del servicio. Los resultados fueron los siguientes:
 - **Sensibilidad: 55%.**
 - **Especificidad: 88%.**

Recordemos el apartado 5.2.3 cuando estudiamos la Función de Supervivencia (Modelo de Kaplan–Meier) comparando: colposcopia normal/cambios menores frente a colposcopia Cambios mayores. Las diferencias no eran estadísticamente significativas (Tablas 85 y 50).

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,003	1	,957

Tabla 85. Prueba de Chi Cuadrado para calcular la significación estadística entre los sub grupos diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes. (Nota: ver Tabla 50).
Realizada por Juan Manuel Praena.

Podemos **concluir** en este apartado 6.8 que la Colposcopia es hoy día el gold estándar para realizar el diagnóstico y manejo clínico de las lesiones pre invasoras del cuello de útero, aunque su sensibilidad es algo baja (**50-70%**). Respecto a **nuestro estudio**:

- Las lesiones **centrales** predominaron sobre las periféricas, en todos los momentos del seguimiento: 0 mes, 6, 12 y 24 meses.
- La afectación de los **4 cuadrantes** es más frecuente en el grupo que progresó que en el grupo que curó. Esto ocurre en los momentos 0, 12 y 24 meses del estudio. Ello se corroboró en el Modelo Multivariante de Cox, donde se consideraron las variables “Citología al inicio, P16 al inicio, Genotipo viral al inicio, Edad y Número de cuadrantes afectados”, se obtuvo un **HR** de 2,644, acercándose este riesgo a la significación estadística (**p = 0,056**). Por tanto lesiones más extensas se correlacionan con mayor riesgo de progresión.

DISCUSIÓN

6.9.- Consideraciones sobre el tamaño de la Biopsia de cérvix.

Otra cuestión a discutir es que el procedimiento de la biopsia cervical podría alterar la evolución natural de las lesiones L-SIL, pudiendo favorecer la resolución espontánea, sobre todo de las lesiones pequeñas. Sin embargo, estudios anteriores(285) ya sea utilizando la citología o biopsia no han mostrado ningún efecto de la biopsia en la evolución a corto plazo de las lesiones LSIL/CIN I.

- **Sagasta, A. et al**(242) argumentan, que en su estudio, la tasa de diagnóstico o resultados HSIL/CIN II-III fue del 17%, siendo ligeramente superior a la que se muestra en otras series(25-27;258;286;287), sugiriendo que el efecto del procedimiento de biopsia en el aumento de la tasa de regresión es muy bajo, si no nulo.
- En **nuestro estudio**, tomamos biopsias de cérvix de tamaño menor a 3 mm, para no interferir en la evolución de las lesiones L-SIL. Ello nos ocasionó, a veces, problemas de orientación de la muestra a nivel microscópico, o material insuficiente para emitir un diagnóstico, lo cual hizo que los patólogos solicitaran nueva toma de biopsia, con la consiguiente molestia para las pacientes. Por tanto, este tipo de política nos llevó a repetir buen número de biopsias cervicales.

Podemos **concluir** por tanto, que las biopsias de cérvix realizadas no han interferido en la evolución natural de las lesiones L-SIL y sí ocasionan repeticiones de tomas, con las consiguientes molestias para las pacientes.

DISCUSIÓN

6.10.- Determinación Viral en citología vs histología.

- **Van der Marel, M.D et al(70)**, describieron en su estudio que cuando compararon la determinación citológica de los genotipos VPH-AR con la tipificación histológica lesional, hubo muy buena concordancia. Así, en > 95% de los casos, los genotipos VPH-AR causales detectados en la citología fueron recuperados de las lesiones CIN II/III individuales por WTS PCR combinado y LCM-PCR (*Laser-Capture-Microscopy-Reacción en cadena de Polimerasa*). Además, la probabilidad de que el genotipo **VPH 16** esté presente en lesiones CIN II-III, si se detecta en la citología, fue de 0,96 (intervalo de confianza del 95% = 0,90-0,98).

Sin embargo, como limitación a la **determinación de genotipos virales VPH-AR en muestras histológicas** comunican los autores(288) que la formalina puede causar enlaces cruzados entre las proteínas y los ácidos nucleicos y también ocasionar la degradación del ADN.

Por otra parte, la **determinación viral en citología** por PCR, también tiene sus limitaciones. Se recoge(289), que en casos de infecciones múltiples por VPH, el uso de estas pruebas de amplio espectro de PCR, al igual que otras pruebas de PCR de amplio espectro, pueden no detectar concentraciones muy bajas de ADN del VPH debido a la competencia entre los diferentes genotipos. Esto puede explicar el hallazgo poco común de los tipos de VPH en WTS-PCR y LCM-PCR que no fueron detectados en la citología.

- Sin embargo, **Gravitt P.E. et al(290)**, informaron de la presencia de un menor número de infecciones múltiples y genotipos en las muestras de tejido que en especímenes exfoliadas. Por tanto, indicaban una menor prevalencia global del VPH (de cualquier tipo frente a ninguno) en secciones de tejido (92,5%) que en las muestras exfoliadas (99,3%, P de McNemar = 0,004). Concluían que la determinación viral en muestras histológicas no aportaban más información que la determinación viral en células exfoliadas, añadiendo además una considerable complejidad técnica y gastos. Además informaron que existía un alto nivel de concordancia entre las dos técnicas. Una posible limitación de estos datos radica en el carácter retrospectivo de este estudio.

DISCUSIÓN

Así, podemos **concluir** que el genotipado viral realizado en muestras citológicas exfoliadas ofrece una alta concordancia viral con las muestras histológicas, aportando menor complejidad técnica y bajo coste.

DISCUSIÓN

6.11.- Infecciones virales Simples vs Múltiples.

- La infección con más de 1 genotipo del VPH (**Infección Múltiple**) se produce con frecuencia, especialmente en las mujeres más jóvenes(291-293).
- En el estudio de **Muñoz et al**(42), se comunicó que las infecciones VPH múltiples no se asociaron con un mayor riesgo de cáncer cervical respecto a las infecciones por un solo genotipo de VPH(294;295).
- Diversos estudios(70) han demostrado que del **15% a 50%** de las mujeres con CIN prevalentes de todos los grados, tienen **infecciones múltiples** por VPH detectados en la **citología**(243;292;296;297).
- **Van der Marel et al**(70), en su estudio de 257 pacientes con **H-SIL**, presentaron **infecciones simples** en el **70%** y solo el **28%** **infecciones múltiples** por VPH-AR en la **citología**. En este artículo tratan de demostrar los autores con las técnicas de Laser Captura Microdissección (LCM) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que **cada lesión H-SIL** se asocia con un **único genotipo de VPH-AR**. Comunican que en 232 de 257 (**90%**) mujeres con CIN II-III, **un solo tipo VPH-AR** causa la lesión CIN II-III. Incluso, en lesiones H-SIL independientes que confluyen (“colisión”), cada lesión presentó un único genotipo viral de alto riesgo.

La atribución de VPH 16 en el Cáncer Cervical Invasivo (**ICC**) es una situación en la que **las infecciones de tipo múltiple son mucho menos comunes que en CIN**.

La **conducta sexual** (estado civil / número de parejas sexuales) influye en el número de infecciones cervicales por virus VPH-AR adquiridas. Pero a nivel de virus VPH-AR causales de lesiones CIN II-III, la influencia de la conducta sexual, respecto a si hay lesiones únicas o múltiples CIN II-III asociadas a diferentes tipos de VPH-AR, se ve disminuida(39;41;70).

- **Cuschieri et al**(292) mostraron que no existía diferencia en la proporción de infecciones múltiples por virus VPH-AR, detectadas en citología, para los diferentes grados de CIN. Por tanto, los autores afirmaban que la prevalencia de infecciones múltiples de genotipos VPH-AR era similar en los distintos grados de lesión citológica,

DISCUSIÓN

habiendo una **falta de “relación de cooperación (potenciación)” entre los distintos genotipos.**

- En **nuestro estudio**, en el momento 0 mes, genotipamos 104 pacientes que presentaban lesión histológica **L-SIL**. Así, se detectaron 25 **infecciones simples (24,03%)**, de las cuales:
 - 6 casos de infecciones por virus de alto riesgo, que al final progresaron.
 - 14 casos que persistieron, 10 eran virus de alto riesgo y 4 bajo riesgo.
 - 5 casos por virus de alto riesgo que curaron a los 24 meses.

Por tanto, el **20,19%** fueron **infecciones simples** por **VPH-AR** y en el **79,81%** de los **L-SIL** presentaron **infecciones múltiples**.

A los 12 meses de seguimiento, genotipamos 98 de las 104 pacientes presentes en ese momento (14 H-SIL; 41 L-SIL; 49 biopsias normales), de los cuales 24 mujeres presentaron **infección simple (24,48%)**:

- 6 pacientes con genotipos de alto riesgo, pertenecientes al subgrupo de progresión.
- 15 casos del grupo de persistencia, 9 eran virus de alto riesgo y 6 de bajo riesgo.
- 3 mujeres que curaron, 2 presentaban virus de alto riesgo y 1 de bajo riesgo.

A los 24 meses, genotipamos 82 casos, de las 83 pacientes presentes en ese momento (3 H-SIL; 20 L-SIL; 60 biopsias normales), de ellas, 23 pacientes presentaron una **infección viral simple (28,04%)**:

- 1 mujer con genotipo de alto riesgo, integrada en el grupo de progresión.
- 19 pacientes del grupo de persistencia: 11 casos con virus de alto riesgo y 8 con virus de bajo riesgo.
- 3 mujeres que curaron, estaban infectadas por virus de bajo riesgo.

Recordamos lo expuesto en el apartado 5.1.2.5:

En el subgrupo de Progresión, tanto al inicio, 12 meses y 24 meses, destaca el **genotipo 16**, en infecciones virales **Simples**. Le siguen en frecuencia los genotipos **31, 33 y 51**. No obtuvimos ninguna infección viral simple por el genotipo 18.

DISCUSIÓN

A los 12 meses, todos los genotipos virales de alto riesgo, en infección simple, sobre expresaban la proteína P16.

No tuvimos ninguna infección simple por virus de bajo riesgo que progresara.

En el subgrupo de Persistencia destacan los genotipos virales de alto riesgo, al inicio, **16** y **31**, en infecciones simples. A los 12 meses resalta el genotipo de alto riesgo **52** y a los 24 meses, los genotipos de alto riesgo **45** y **58**.

Hemos detectado 2 infecciones simples por virus de bajo riesgo que sobre expresaban la proteína P16. Estos genotipos virales son el **42**, en el momento 0 mes, y el **61** a los 24 meses.

En el estudio de **Razmpoosh M. et al**(267) , ningún genotipo viral de bajo riesgo (detectado en biopsia/histología) sobre expresó la proteína P16 INK4a.

En el subgrupo de Curación apreciamos una infección simple por virus de alto riesgo genotipo **16**, en el momento 0 mes, que sobre expresa la proteína P16. También destacar que el genotipo de alto riesgo más frecuente es el **51**, detectado el inicio del estudio. Uno sobre expresa la proteína P16 y otro no. A los 12 meses aparece una infección simple por un genotipo de alto riesgo **16** P16 (-) que en el momento 0 mes presentaba una infección viral múltiple VPH-AR + BR: AR: 16; BR: 81, 84.

A los 24 meses detectamos tres infecciones simples por los virus de bajo riesgo: 83, GP 6108 y 61. Las tres infecciones no sobre expresaban la proteína P16.

Respecto a las lesiones histológicas **H-SIL** (22 pacientes que progresaron), **9** pacientes presentaron **infección simple** por virus de **alto riesgo (41%)**, determinado mediante citología: 5 casos VPH-AR **16**; 3 casos VPH-AR **31** y 1 caso VPH-AR **33**.

El **59%** restante fue producido por **infecciones múltiples (13** pacientes), por virus de alto y bajo riesgo (sólo en 2 casos las infecciones múltiples fueron producidas por virus de alto riesgo exclusivamente). De estas **13** pacientes, con lesiones H-SIL e **infecciones múltiples**, en 8 casos (61,53%) estaba presente el genotipo **16** y en 3 casos el genotipo **18** (7,69%).

Podríamos destacar, que en el **41%** de los 22 casos **H-SIL** que progresaron, **no estaban presentes** los genotipos de alto riesgo **16** y **18**.

DISCUSIÓN

Podemos **concluir** que las infecciones múltiples son más frecuentes que las infecciones simples, en las lesiones **L-SIL**, oscilando su frecuencia entre el **72%-80%**. Estas proporciones se mantienen a lo largo del seguimiento del estudio a los 12 y 24 meses. En el sub grupo de pacientes que progresaron (**H-SIL**) la proporción de pacientes que presentaban infecciones múltiples descendió al **59%** en favor de las simples. Por último destacar que en el **41%** de los 22 casos **H-SIL** que progresaron, **no estaban presentes** los genotipos de alto riesgo **16 y 18**.

DISCUSIÓN

6.12.-Consideraciones sobre VPH-AR.

- **Sagasta A. et al(242)**, informaron que el **86,4%** de sus pacientes **L-SIL/CIN I**, presentaban infección por virus del alto riesgo **VPH-AR**, estando en concordancia con los datos recogidos en la bibliografía. Así, se muestra que más del 80% de las lesiones L-SIL/CIN I son positivos para el VPH-AR. Otros autores (298) comunican un **77%** de infecciones VPH-AR en lesiones L-SIL. Este porcentaje es ligeramente superior (**96,5%**) en el grupo de pacientes que mostraron un diagnóstico de **HSIL/CIN II-III(299)**.
- **Schiffman M et al(300)**, comunicaron que en aproximadamente el **85%** de las lesiones CIN I se detectó **VPH-AR**, lo cual ofrece poca información sobre el pronóstico, según ellos.
- En el Estudio de **Razmpoosh M. et al(267)**, concluyen que **el subtipo de VPH-AR es un pobre predictor del comportamiento de una lesión L-SIL/CIN-I:**
 - 14 pacientes (21,9%) tenían VPH-BR;
 - 46 (**71,9%**) tenían VPH-AR;
 - 4 (6,2%) VPH negativa.

Los 64 bloques de parafina, de la misma muestra que la de la biopsia en la que se hace el diagnóstico, fueron disponible para el VPH PCR-DS.

- Cuatro (6,2%) mostraron ser negativos para el VPH utilizando el método PCR-DS, de los cuales uno progresó a una lesión de alto grado, uno persistió, y dos retrocedieron.
- En el 21,9% los especímenes con el subtipo VPH-BR, uno VPH 66 progresó, cuatro persistieron, y nueve regresaron. Este genotipo viral número 66, se ha reclasificado, considerándose actualmente como de alto riesgo.
- En 46 (71,9%) los especímenes con el subtipo de VPH-AR, cuatro progresaron, 13 persistieron, y 29 retrocedieron.

Por otra parte, a partir de las 34 (53,1%) muestras de biopsia-**P16 INK4a negativo**, 19 (55,9%) fueron **VPH-AR**, 12 (35,3%) eran **VPH-BR**, y tres (8,8%) fueron **negativos**.

Del mismo modo, para las 10 muestras **P16 INK4a positivo en el tercio inferior**, ocho eran virus de **alto riesgo** y dos eran de **bajo riesgo**.

Para los 20 casos (31,2%) **P16 INK4a difusamente positivas**, 19 se asociaron con **VPH-AR** y 1 con **VPH negativo**.

DISCUSIÓN

En las seis (9,4%) lesiones **CIN I que progresaron a CIN II-III**, hay tres tipos diferentes de **VPH-AR** (más específicamente, HPV 16 dos veces, HPV 58 y HPV 82), uno HPV 66 de **bajo riesgo**, y uno negativo para el VPH; este último es digno de mención ya que era P16 INK4a difusamente positiva.

Posible desventaja del diseño de este estudio, está en que **el subtipo de VPH no fue reevaluado en muestras de seguimiento**, pues sólo se determinó al inicio.

Conclusiones del estudio de **Razmpoosh M. et al:**

El **subtipo de VPH** es un pobre predictor del comportamiento de una lesión CIN I.

Según los autores, en esta relativamente pequeña muestra de pacientes, la tinción de **P16 INK4a** demostró ser una excelente y sensible prueba, que podría ayudar en la selección de los pacientes que necesitaran un seguimiento menos intensivo, específicamente, los pacientes con una lesión CIN I que se tiñe negativamente o tiene positividad confinada a la parte del tercio inferior del epitelio escamoso. Estas lesiones rara vez progresan a lesiones de alto grado. En este estudio, 44 de los 64 pacientes no hubiesen requerido un seguimiento cercano.

Anima a realizar estudios con cohortes más grandes para validar esta hipótesis. Si se valida dicha hipótesis, se justificaría el uso de inmunotinción P16 INK4a como una simple solución que es altamente fiable y reproducible para identificar pacientes con CIN I/L-SIL con riesgo de desarrollar lesiones precancerosa, incluso en zonas remotas donde las más sofisticadas modalidades de diagnóstico no están disponibles.

- **Liao et al(258)**, comunican que la **positividad del VPH-** se asoció fuertemente con la tinción P16 INK4a [odds ratio (**OR**) = **12,8**; Intervalos de confianza del 95% (IC): 5,2-31,6]. La **tasa de positividad de VPH** en **CIN I**, **CIN II**, **CIN III** y **ICC** fueron **76,5%** (124/162), **88,2%** (45/51), **95,9%** (47/49) y el **100,00%** (3/3), respectivamente, mientras que el tejido normal tenía una tasa de positividad de **15,7%** (29/185) ($p < 0,001$). El aumento de las tasas de positividad de VPH también se asociaron significativamente con la progresión de la enfermedad ($p < 0,001$).

También afirmaron que en las mujeres con diagnóstico **CIN I+**, la **expresión P16 INK4a** en el grupo de **VPH positivo** (**65,8%**, 144/219) fue significativamente mayor que en el grupo **VPH negativo** (**13,0%**, 6/46) ($p < 0,001$, O R= 12,80; IC del 95%: 5,19-31,56). Por tanto, afirman que la infección por los virus VPH debería considerarse como un factor de riesgo para la sobreexpresión.P16 INK4a. Ello estaría en consonancia con la hipótesis de la historia natural de la sobre expresión de la proteína P16 INK4a en

DISCUSIÓN

células infectadas con el virus VPH, debido a la inactivación de pRb por la proteína E7 del VPH (174;301-303).

- **Del Pino et al**(25), observaron una **tinción positiva** para **P16 INK4a** en 1 de 9 (**11,1%**) mujeres negativas para el VPH-AR y en 76 de 129 (**58,9%**) de las mujeres positivas para VPH-AR ($P = 0,01$). En su estudio, Del Pino et al, también comunicaron que la detección de VPH-AR en pacientes CIN I es de uso muy limitado, ya que un resultado negativo excluye la progresión en sólo 6-15% de los casos(304). Además afirman que la prueba P16 INK4a ha demostrado que es un marcador sensible y específico, con un valor predictivo mejor que las pruebas de ADN del VPH para CIN II-III(97;177;185;305;306).
- **Ozaki et al**(287), en su estudio retrospectivo, comunican que mediante la determinación viral por Captura de Híbridos II (HC-II) para el **VPH**, esta fue positiva en 82 de los 119 casos (**69%**) de **CIN I**. Los resultados positivos aparecieron más comúnmente para CIN II (95%) y CIN III (100%) que para CIN I ($p < 0,001$). Todos los casos de carcinoma también fueron positivos para el VPH. Además afirmaron que la prueba del VPH fue menos específico para valorar el riesgo de progresión de CIN I.
- En el **Estudio ALTS**(307), un gran ensayo clínico llevado a cabo en los EE.UU, para evaluar si es o no útil realizar la determinación de ADN del VPH como estrategia de cribado en pacientes con L-SIL/CIN I, el estudio concluyó que las pruebas de ADN del VPH tiene un potencial limitado para el clínico en el tratamiento de los pacientes con L-SIL porque un porcentaje muy alto de las mujeres con esta lesión fueron positivas para ADN del VPH.
- Sin embargo, nos llama la atención los resultados de **Klaes et al**(95), pues comunican un **32%** (15 de 47 CIN I) de detección de virus **VPH-AR** en muestras histológicas mediante la técnica PCR. Esto puede ser explicado porque se utilizaron muestras almacenadas en un archivo desde hacía más de 30 años.
- En el estudio de **Carozzi et al**(253), en **edades medias**, alrededor del 70-80% de las infecciones prevalentes por VPH se **aclaran en 2-3 años**.

DISCUSIÓN

- En **nuestro estudio**, en el momento 0 mes, obtuvimos los siguientes datos:
De los **113 L-SIL** presentes al inicio, el **68,11%** presentó infección por **virus de alto riesgo (VPH-AR)**, de forma simple o múltiple. Un 22% detectamos infección por virus de bajo riesgo y un 14% no estaba infectado.
Además, de las 44 pacientes que sobre expresaban la proteína P16 en el momento 0 mes, el **77,29%** presentaba infección viral VPH-AR, frente al **62,3%** de las 69 pacientes que no sobre expresaba la proteína P16 (Tabla 6).
Por otra parte estudiamos la relación de la sobre expresión de la Proteína P16 con la presencia o no de infección por virus del papiloma de alto riesgo, a lo largo del seguimiento de 24 meses.
Así observamos como en el momento 0 mes el **44,15%** de las pacientes infectadas por **virus de alto riesgo** sobre expresaban la proteína P16 (**P16 (+)**) frente al 27,77 % de las paciente con infección por virus de bajo riesgo o no infectadas.
A los 12 meses de evolución, el **40,38%** de las pacientes con infección por **VPH-AR** presentaron **P16 (+)**, frente al 0% de pacientes VPH-BR o no infectadas.
A los 24 meses, el **17,24%** de las pacientes **VPH-AR** sobre expresaban **P16 (+)**, frente al 1.85 % de las pacientes VPH-BR o no infectadas.
Como podemos apreciar, hay diferencias en la sobre expresión de la Proteína P16 entre los grupos VPH-AR frente a VPH-BR/No infección.
Además vemos como la sobre expresión de P16 va descendiendo en ambos grupos a lo largo de los 24 meses (Tabla 86).

DISCUSIÓN

		0 mes		12 meses		24 meses	
		N °	%	N °	%	N °	%
VPH-AR	P16(+)	34	44,15	21	40,38	5	17,24
	P16 (-)	43	58,84	31	59,61	24	82,75
VPH-BR No infección	P16(+)	10	27,77	0	0	1	1,85
	P16 (-)	26	72,22	52	100	53	98,14
Total		113		104		83	

Tabla 86. Relación entre los VPH – AR vs BR/No infección y la Sobre expresión P16, a los 0, 12 y 24 meses.

Sin embargo, si dividimos en subgrupos según el resultado final del seguimiento, resulta que:

- Subgrupo de progresión: presentaba un **86,33%** de infección por **VPH-AR**, al inicio.
- Subgrupo de persistencia: obtuvimos un **68,3%** de pacientes infectadas por **VPH-AR** al inicio.
- Subgrupo de curación: el **63,15%** de las pacientes estaban infectadas por **VPH-AR**.

Por el contrario, la **ausencia de infección viral**, al inicio, se presentó de la siguiente manera en los tres subgrupos:

- Subgrupo de progresión: ocurrió en el **13,63%** de las pacientes. Como dato curioso, detectamos 2 casos de progresión, que en el momento 0 mes sobre expresaban la proteína P16 sin presencia viral. A los 12 meses, estos casos, ya identificamos virus de alto riesgo con sobre expresión de la proteína P16.

En el estudio de **Razmpoosh M et al(267)** , detectaron un caso que progresó, que sobre expresaba la proteína P16 y no se detectó infección viral.

DISCUSIÓN

- Subgrupo de persistencia: apareció en el 8,33% de las pacientes.
- Subgrupo de curación: se presentó en el 26,31% de las mujeres.

Podemos **concluir** en este apartado que el **68,11%** de las pacientes L-SIL al inicio presentaba infección por virus de alto riesgo. Esta cifra es inferior a la comunicada por otros autores, que oscila entre el 76,5% y el 86,4%, como ya expusimos arriba. Considerando a los sub grupos de Progresión, Persistencia y Curación obtuvimos los siguientes porcentajes de infecciones virales VPH-AR, al inicio del estudio, respectivamente: **86,33%**, **68,3%** y **63,15%**.

Por otra parte podemos destacar que hay diferencias en la **sobre expresión de la Proteína P16** entre los grupos infectados por virus VPH-AR frente a VPH-BR/No infección. Así, en el momento 0 mes el **44,15%** de las pacientes infectadas por **virus de alto riesgo** sobre expresaban la proteína frente al 27.77 % de las paciente con infección por virus de bajo riesgo o no infectadas. A los 12 meses de evolución, el **40,38%** de las pacientes con infección por **VPH-AR** presentaron **P16 (+)**, frente al 0% de pacientes VPH-BR o no infectadas Y a los 24 meses, el **17,24%** de las pacientes **VPH-AR** sobre expresaban **P16 (+)**, frente al 1,85% de las pacientes VPH-BR o no infectadas. Por tanto, esta sobre expresión de P16 va descendiendo en ambos grupos (infectados y no infectados por virus VPH-AR) a lo largo de los 24 meses.

DISCUSIÓN

6.13.-Consideraciones sobre VPH-AR Genotipo 16.

- Las lesiones CIN II relacionadas con el virus VPH-AR 16 parecen desarrollarse más rápidamente que las asociadas con otros tipos VPH-AR. No se encontró, en el Estudio “*The impact of human papillomavirus genotype on colposcopic appearance: a cross-sectorial analysis*” (69), ninguna asociación significativa entre el tamaño de la lesión y la positividad VPH 16. Esto implica que CIN II+ se detecta con el mismo tamaño, independientemente del genotipo, pero las lesiones CIN II+ relacionadas con el **VPH 16** alcanzan el **umbral de detección más rápido** que las lesiones relacionadas con otros genotipos, ya que **se encuentran en edades más temprana**(69).
- **Jerónimo et al**(308) sugirieron que el virus **VPH 16 provoca anomalías visuales más precisas** que otros tipos de VPH, independientemente del diagnóstico histológico final. La edad media de la población de estudio de Jerónimo et al. fue de 24 años.
- La lesión de alto grado, precáncer cervical, tiene que crecer a un tamaño determinado antes de que sea detectada durante la colposcopia. Las **lesiones de alto grado evolucionan más rápidamente** en las mujeres infectadas por el virus **VPH 16** que muchos otros tipos VPH-AR. Esta afirmación se basa en la evidencia de que el cáncer cervical intraepitelial (ICC) asociado a **VPH 16 se produce a una edad más temprana** que el asociado a muchos otros tipos VPH-AR y que el desarrollo del ICC desde CIN3 se asocia con un gran tamaño de la lesión(239;282).
- Como ya expusimos más arriba, **Wentzensen et al**(283), observaron una **diferencia de tamaño** de las lesiones **CIN II** entre las mujeres con **VPH 16** y otros tipos, pero no en CIN III.
- En el estudio de **Van der Marel et al**(70), afirmaron que el genotipo **VPH-AR 16** fue **el más predominantemente agente causal**, hallado en el **51%** las lesiones **CIN II-III** como infecciones simples o múltiples. Encontraron que el genotipo **VPH 52** fue más frecuente en lesiones **CIN II-III**, casos atribuidos a **VPH-AR múltiple**. Así, reafirman el **papel dominante de VPH 16 en la progresión** de la infección por VPH-AR. Una conclusión importante de todos estos estudios, en conjunto, es que **un solo genotipo VPH-AR** produce una lesión única, que puede ser macroscópica o microscópica y que esto se ve en todos los grados de lesión de la infección hasta el cáncer cervical invasor.

DISCUSIÓN

Como ya comentamos, la probabilidad de que el genotipo VPH 16 esté presente en lesiones CIN II-III, si se detecta en la citología, fue de 0,96 (intervalo de confianza del 95% = 0,90-0,98). Por tanto, hay una alta correlación en el genotipado viral entre la determinación en citología y en histología cervical.

- **Schlecht, N.F. et al(19)** comunican que el virus VPH genotipo 16 es menos común en las lesiones CIN I que en CIN III. Por otra parte, afirman también, que los virus VPH no oncogénicos, se hallan más frecuentemente en lesiones CIN I.
- **Genovés J et al(245)**, informaron que el genotipo 16 del VPH fue el que más frecuentemente sobre expresó la proteína P16.
- En **nuestro estudio**, el genotipo de alto riesgo más frecuente, desde el punto de vista global, es el n° **16**, seguido en frecuencia por los genotipos **52** y **58**.
 - El genotipo 16 destaca su presencia a los 12 meses, sobre expresando la proteína P16. Al inicio, también se muestra como el genotipo viral de alto riesgo más frecuente que sobre expresa la proteína P16 (P16 (+)). A los 24 meses, también es el genotipo más persistente, asociado al grupo P16 (+).
 - El genotipo 52 resalta al inicio del estudio, asociado al grupo P16 (-).
 - El genotipo 58, sin embargo, es más frecuente al inicio, asociado al grupo P16 (+).

Si consideramos a los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, el **genotipo 16** destaca en los 3:

- Subgrupo de Progresión: los genotipos más frecuentes, por orden de frecuencia son el **16**, **52** y **58**.
- Subgrupo de Persistencia: los genotipos más frecuentes son el **16** junto al **52** y el **58** junto al **66**, por orden de frecuencia.
- Subgrupo de Curación: los genotipos más frecuentes son el **16** y el **51**. Destacamos 3 casos con genotipos 16 que sobre expresan la proteína P16 en el momento 0 mes y desarrollaron curación a los 24 meses. Llama la atención el genotipo 31 que sobre expresa la proteína P16 en el momento 0 mes y a los 12 meses y después cura. Sólo es este genotipo el que sobre expresa la proteína

DISCUSIÓN

P16 a los 12 meses. Los otros genotipos de alto riesgos presentes a los 12 meses no sobre expresan la proteína P16.

Por otra parte, dividimos nuestra muestra de estudio en tres grupos de edad. Así obtuvimos:

- Pacientes ≤ de 25 años:
El genotipo más frecuente en estas pacientes fue el n° **16**, seguido, en orden de frecuencia por el genotipo **51**.
- Pacientes entre 25 y 30 años:
Predomina también en este grupo el genotipo **16**, seguido en orden de frecuencia por los genotipos **52** y **51**.
- Pacientes > de 30 años:
Destaca el genotipo de alto riesgo **16** en este grupo de edad. Le sigue en frecuencia los genotipos **52**, **31** y **58**.

No se detectaron genotipos n° 18 en el grupo de población mayores de 30 años.

Así, el genotipo de alto riesgo **16**, resalta en el grupo de pacientes > de 30 años que progresan.

En el subgrupo de pacientes > de 30 años que persisten destacan los genotipos **52**, **31** y **51** junto al **58** (por orden de frecuencia).

Podemos **concluir** que el Genotipo viral **VPH 16** es el más frecuente tanto en los subgrupos de Progresión, Persistencia y Curación, como en los sub grupos de edad ≤ de 25 años, de 25-30 años y > de 30 años. También destacó este genotipo VPH 16, en la **sobre expresión de la Proteína P16** en los momentos 0, 12 y 24 meses de estudio.

DISCUSIÓN

6.14.- Consideraciones VPH- Bajo riesgo.

- Como ya recogimos anteriormente, diferentes estudios establecen que las lesiones L-SIL, inmunonegativas para P16, son lesiones causadas por VPH de bajo riesgo(21;22;33;58;73).
- Sin embargo, **Snijders et al**(309), comunican que un número considerable de casos **CIN II** pueden ser causados por tipos de VPH de **bajo riesgo**. Otros autores(310) han comunicado que los VPH-BR **pueden causar algún cáncer**, pero la asociación es tan infrecuente que, desde el punto de vista clínico, sólo interesa detectar los VPH-AR.
- En el estudio de **Maryan Razmpoosh, M.D**(267) curiosamente, una lesión CIN I-P16 INK4a negativa que progresó, se asoció con una infección por VPH de bajo riesgo genotipo 66 (determinado en histología). Por lo tanto, concluyen, que una prueba de VPH no habría proporcionado ninguna advertencia adicional para el clínico. Este genotipo se reconsideró posteriormente como perteneciente al grupo de alto riesgo.
- En el estudio de **Liao et al**(258), ningún caso de CIN II+ se desarrolló entre las pacientes VPH negativas. Tampoco detectaron casos de progresión CIN II+, en pacientes, dualmente negativas para P16 y VPH-AR.
- **Katki, H.A et al**(311) comunican que el riesgo de CIN III en L-SIL con VPH (-) es similar a la presencia de ASCUS solamente.
- **Burger et al**(312), comunican y sugieren la posibilidad de considerar los casos de CIN VPH negativos como una entidad clínica independiente.
- En **nuestro estudio**, ningún **genotipo de bajo riesgo**, solo en infección simple o múltiple, ocasiona sobre expresión de la proteína P16 (+). Aparecen acompañados de virus de alto riesgo, en infección múltiple, sobre expresando la proteína P16. Tampoco ningún virus de bajo riesgo, sólo o en infección múltiple, produjo un caso de progresión a lesión H-SIL.

DISCUSIÓN

Así, podemos **concluir**, que la presencia de la infección viral VPH-AR es condición necesaria, pero no suficiente, para la progresión de las lesiones L-SIL a H-SIL. Por tanto, para el manejo clínico de estas pacientes sólo nos interesa si están presentes virus VPH-AR.

DISCUSIÓN

6.15.- Valor de la CITOLOGÍA PREVIA.

- En el estudio de **Sagasta et al** y **otros estudios**(242;313), han informado que alrededor del **15-20% de las mujeres que muestran LSIL / CIN I en la biopsia** tiene un resultado de la prueba de Papanicolaou con AGC (células glandulares atípicas), o ASC-H (células escamosas atípicas no pueden excluir la lesión de alto grado), o HSIL.
Sagasta et al (242), recogieron en su estudio que un resultado de la prueba de Papanicolaou HSIL en la visita inicial se observó en el **15%** de las mujeres. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes (**69%**), con un diagnóstico histológico H-SIL/CIN II-III (casos que progresaron), tenían una **citología HSIL** simultáneamente con el diagnóstico histológico L-SIL/CIN I al inicio del estudio (después fueron reclasificados como H-SIL/CIN-II en la revisión histológica utilizando los criterios LAST).
Nosotros observamos citologías de alto grado, al inicio del estudio, en el **20,35%** de los 113 casos L-SIL (CIN I). Por otra parte, en el grupo que progresó, el porcentaje de citología H-SIL al inicio se elevó a **36,36%**.
En el estudio de **Sagasta et al**(242), se informó también que un resultado HSIL en la prueba de Papanicolaou realizado en la visita inicial se asoció fuertemente con un diagnóstico posterior de H-SIL/CIN II-III (OR = 5,6), y curiosamente, el tiempo hasta el diagnóstico H-SIL/CIN II-III también fue menor en estas mujeres, lo cual hace pensar que estas pacientes podrían tener ya una lesión H-SIL/CIN II-III subyacente no identificada o infradiagnosticada en la evaluación inicial.
- **Pacchiarotti et al**(248) comunican en su estudio “*Prognostic value of p16 INK4a protein in women*”, los siguientes resultados:
Los 13 casos que progresaron a CIN II+ tenían estos resultados citológicos al inicio del estudio: 1 ASCUS, 11 L-SIL y 1 (**7,69%**) H-SIL.
- **Katki et al**(313), informan que el riesgo de CIN III oculto, entre mujeres con biopsias CIN I, está vinculado con el riesgo de la citología previa. Así, en lesiones **CIN I** con **citología previa L-SIL o ASCUS y VPH positivo**, el riesgo de CIN III+ estimado a 5 años era de **3,8%**. Sin embargo, en lesiones **CIN I**, con **citología previa H-SIL**, el riesgo de CIN II+ a 5 años se estimó en un **15%**.

DISCUSIÓN

- En **nuestro estudio**, las 22 pacientes que progresaron, tenían estas **citologías al inicio** del estudio:
 - 14 pacientes (63,63%) presentaban citología de bajo grado (ASCUS / L-SIL)
 - 8 (**36,36%**) presentaron **citología de alto grado** (ASC-H/H-SIL).

Así, de las pacientes que progresaron, el 36,36% presentaban citología H-SIL al inicio, frente al 16,66% de las pacientes que persistieron o al 15,78% que curaron.

De hecho, las cuatro pacientes que progresaron a los 6 meses, presentaban citología H-SIL. En estos cuatro casos podríamos pensar que las lesiones H-SIL ya estaban presentes al inicio del estudio y se infra diagnosticaron.

Por otra parte, **en el momento del diagnóstico histológico H-SIL** (progresión), el **63,63%** presentaban conjuntamente **citologías H-SIL**. Curiosamente, una paciente presentaba una citología normal. El resto fueron lesiones de bajo grado.

Por otra parte, visto de forma global, 23 pacientes (**20,35%**), de las **113 pacientes con lesión L-SIL** que iniciaron el estudio, presentaron una **citología de alto grado** en el momento 0 mes:

- 8 pertenecían al grupo de **progresión** (8/23; **34,78%**).
- 10 al grupo de **persistencia**. (10/23; **43,47%**).
- 3 al grupo de **curación**. (3/23; **13,04%**).
- 2 abandonos.

Por tanto, de las 23 pacientes que presentaron **citología de alto grado al inicio** del estudio, sólo un 13,04% curó y **78,25%** progresó o persistió.

Así, en la Curva de la Función de Supervivencia del **Método de Kaplan-Meier** respecto a la variable “citología previa” arrojaba una **p** con valor de **0,060** y en el **Modelo Univariante de Cox** respecto a la variable “citología previa” obteníamos una **p** de **0,066**. Ambas **p** se aproximan a la **significación estadística**.

Por tanto, podemos **concluir** que la **Citología del inicio del estudio** tiene un importante valor pronóstico, pues, como hemos expresado arriba, las paciente que presentaban una Citología H-SIL al inicio tenía un **78,25%** de probabilidad de Progresar a H-SIL o Persistir

DISCUSIÓN

con la lesión L-SIL inicial. Entendemos que su valor diagnóstico se basa en que con el cepillado del cuello uterino tomamos células de toda la superficie de la unión escamocolumnar y exocervix.

DISCUSIÓN

6.16.- P16 INK4a como factor Predictor de progresión de lesiones H-SIL.

- **Carozzi et al(253)**, comienzan enunciando en su estudio, que la predicción de P16 INK4a (realizado en citología) para CIN III+ era mejor que para CIN II, posiblemente debido a que el tiempo necesario para la progresión a CIN II, en pacientes con sobre expresión de P16, es más corto que para la progresión a CIN III(253).

Según dicho estudio, no registraron cánceres invasivos en mujeres P16 negativos y VPH-positivo, en los 3 años de seguimiento. Así proponen, que en este grupo de pacientes, podrían ampliarse los intervalos de seguimiento(253), pues la probabilidad de progresión a CIN III es baja. Cierta evidencia apoya esta estrategia, pero no es concluyente (25;55;251;286;287).

La exactitud longitudinal depende principalmente de la historia natural de las células infectadas por el VPH, expresen o no la proteína P16, es decir, en sus tasas de progresión a CIN de alto grado. Por lo tanto, se esperaría que la precisión longitudinal de doble tinción o tinción dual (P16/ki67) pudiera ser similar a la de la tinción para P16 sola(253).

- En el estudio de **Sagasta, A. et al(242)**, comunicaron que la tasa de resultados H-SIL/CIN II-III de las mujeres con P16 positivo y LSIL/CIN I al inicio, fue el doble que la de aquellas pacientes con resultado P16 negativo. Esta diferencia disminuyó a valores no significativos en el análisis multivariante, excluyendo las biopsias reclasificadas como negativo o H-SIL/CIN II-III del análisis. Por tanto, la **utilidad de P16** como un **marcador de la progresión** podría estar relacionada con factores de confusión tales como la falta de diagnóstico de H-SIL/CIN II, ya que, como mencionamos arriba, más de la mitad de las pacientes (**69%**) con un diagnóstico histológico de H-SIL/CIN II-III (pacientes que progresaron) tenía una **citología H-SIL** (Citología al inicio) **simultáneamente con el diagnóstico histológico L-SIL/CIN I**, lo que sugiere que la lesión histológica H-SIL/CIN II-III ya estaba presente. En nuestro estudio, sólo el **36,36%** de las **pacientes que progresaron** presentaron al inicio una **citología H-SIL**. Podríamos pensar que las 4 pacientes que progresaron a los 6 meses fueron infra diagnosticadas al inicio, pues ya estaba presente la lesión H-SIL en el momento 0 mes. (Esto supondría un 3,53% de infradiagnóstico).

DISCUSIÓN

- En el estudio de **Benevolo et al** y **Guo et al**(254;305), se expresaba que la determinación de P16 parecía especialmente adecuada en la selección de las mujeres con citología L-SIL, en las que el filtro con ADN-VPH era poco eficiente. Así, en **citologías L-SIL**, la **P16 fue positiva en 58%** de los casos, mientras que el ADN-VPH lo fue en el 85%(314). Los resultados para citologías HSIL fueron del 97% y el 86%, respectivamente. Estas diferencias entre L-SIL y H-SIL fueron estadísticamente significativas para P16 ($p < 0,001$) y no lo fueron para HC-II ($p = 0,264$), lo que indicaba un VPP de la P16 para HSIL significativamente mayor.
- En el estudio de **Razmpoosh et al**(267), afirman que la **proteína P16 INK4a** es un marcador pronóstico de las lesiones L-SIL/CIN I. Esto está de acuerdo con los estudios de **Del Pino M., Hariri J. y Negri G.**(25;55;208), que demostraron que la no expresión de la proteína P16 INK4a se asociaba con tasas más bajas de progresión hacia una lesión H-SIL/CIN II-III. Los resultados del estudio de Razmpoosh et al. mostraron que de las 44 lesiones CIN I P16 INK4a negativas, sólo una progresó y de las 10 muestras con P16 INK4a positivas en el tercio inferior (consideradas actualmente como P16 negativas), ninguna progresó.
- **Liao et al**(258), comunicaron que la tinción P16 INK4a en biopsias CIN I al inicio del estudio **se asoció** con un mayor riesgo de encontrarse CIN de alto grado tras más de 2 años de seguimiento (OR: 1,43, IC del 95%: 0,52-3,91). Concluyen que la sobre expresión de la proteína P16 INK4a estaba fuertemente asociada con el grado de CIN y el riesgo de progresión a CIN de alto grado.
- En el estudio de **Negri et al**(208), las pacientes CIN I (L-SIL) P16 INK4a negativas, curaron el 71,4% y progresaron en el 28,6%.
Mientras que las pacientes CIN I (L-SIL) P16 INK4a positivas, progresaron a CIN III el 62,2% de los casos y retrocedieron en el 37,8%. ($p < 0.05$).
- Del **Pino et al**(25), comunicaron que las lesiones CIN I positivas para P16 INK4a mostraron una tendencia significativamente mayor a progresar a CIN II-III. Así, el **18,2%** de los casos **CIN I P16 INK4a positivo** progresaron a CIN II-III, y el 42,9% de ellos regresaron.

DISCUSIÓN

- En **nuestro estudio**, basamos nuestras conclusiones en los **modelos de Regresión Uni y Multivariantes de Cox**. En ellos tratamos de dar explicación a nuestro “fenómeno de salud problema”, que es la lesión H-SIL (variable dependiente). Para ello, analizamos distintas variables independientes, predictoras o factores de confusión, como la **Edad**, infección viral **VPH al inicio** del estudio, número de **Cuadrantes cervicales afectados** al inicio, **Citología previa** y sobre expresión o no de la **proteína P16**.

Cuando valoramos cada variable de forma independiente, en los **Modelos Univariantes de COX**, destaca la variable “presencia viral **VPH al inicio**” (Tablas 87 y 88. Ver Tablas 61 y 62):

Variables en la ecuación								
							95,0% IC para Exp(B)	
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
HPV_0_mes_			5,644	2	,059			
HPV_0_mes_(1)	,870	,669	1,692	1	,193	2,386	,644	8,848
HPV_0_mes_(2)	1,528	,667	5,251	1	,022	4,610	1,247	17,034

Tabla 87. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio. (Nota: Ver Tabla 61).
Realizada por Juan Manuel Praena.

VPH	p	HR	IC al 95%
Ausencia viral o VPH de bajo riesgo	0.109		
VPH de alto riesgo No 16/18	0.183	2.430	0.658 – 8.978
VPH de alto riesgo 16/18	0.037	4.102	1.088 – 15.463

Tabla 88. Tabla de Modelo Univariante de Cox – VPH al inicio. (Nota: Ver Tabla 62).
Realizada por Ana Fernández Palacín.

Así, estar infectado por los virus de alto riesgo 16 y 18, al inicio del estudio, supone una razón de riesgo (**HR**) de **4,102-4,610**, con una **p** significativa de **0,037-**

DISCUSIÓN

0,022. (Tablas 87 y 88. Ver Tablas 61 y 62). Por tanto, el riesgo de progresar a H-SIL se multiplica por 4 ante la infección viral VPH 16/18.

Sin embargo, sobre expresar la **proteína P16** al inicio del estudio, sólo supone un riesgo **HR** de **1.146** con una **p** de 0,765 (no significación estadística) (Tabla 89).

Proteína P16	P	HR	IC al 95%
P 16 (+)	0.765	1.146	0.469 – 2.805

Tabla 89. Tabla de Modelo Univariante de Cox – P16, al inicio. (Nota: ver Tabla 67).

Realizada por Ana Fernández Palacín.

En el primer **Modelo multivariante de COX** (Tabla 90. Ver Tabla 68), teniendo en cuenta las variables independientes “**Citología previa** al inicio del estudio”, “**P16** al inicio del estudio”, “**VPH-AR** al inicio del estudio” y “**Edad mayor de 30 años**”, destaca de nuevo la variable “**VPH-AR** al inicio del estudio, con un **HR** de **3,324** y una **p** de **0,061** (se aproxima a la significación estadística). Sin embargo, la sobre expresión de la **Proteína P16** presenta una **HR** de 0,923 con una **p** de 0,864.

VARIABLES	p	HR	IC al 95 %
CITOLOGÍA al inicio			
- Alto grado	0,269	1,721	0,657 – 4,509
P16 al inicio			
- Positiva	0,864	0,923	0,369 – 2,308
VPH-AR al inicio			
- Positivo	0,061	3,324	0,947 – 11,664
EDAD			
- = > 30 años	0,201	1,891	0,713 – 5,016

Tabla 90. Tabla de Modelo Multivariante de Cox – Citología alto grado, al inicio – P16, al inicio – VPH – AR, al inicio – Edad > 30 años. (Nota: Ver Tabla 68).

Realizada por Ana Fernández Palacín.

Como el valor de **HR** está próximo a 1, en el caso de la variable **P16**, indica que sobre expresar la proteína P16 al inicio del estudio no supone mayor riesgo de progresión a lesiones de alto grado H-SIL.

DISCUSIÓN

Por tanto, presentar una infección por los **virus de alto riesgo 16/18** al inicio del estudio supone un **riesgo de 3 veces mayor de poder desarrollar la lesión de alto grado H-SIL**.

Seguidamente construimos un segundo **Modelo de regresión Multivariante de Cox** (Tabla 91. Ver Tabla 70), en el consideramos las siguientes variables independientes: “**Citología previa** al inicio del estudio”, “**P16** al inicio del estudio”, “**Genotipos virales VPH** al inicio del estudio”, “**Número de Cuadrantes cervicales afectados** al inicio” y “**Edad**”

Resalta de nuevo la variable independiente **VPH-AR 16/18**, con un **HR** de **6,252** y una **p** de **0,008**, siendo estadísticamente significativa. Por tanto, las **lesiones L-SIL infectadas por virus VPH-AR 16/18 tienen 6 veces más riesgo de progresar a lesiones H-SIL que las lesiones sin infección viral o infectadas por virus de bajo riesgo**.

Sin embargo, las lesiones L-SIL que sobre expresan la **proteína P16** al inicio presentan un **HR** de 0,775 y una **p** de 0,586, no siendo estadísticamente significativa. Esto quiere decir que como el valor de HR es menor de 1, la sobre expresión de P16 en las lesiones L-SIL actuaría como factor protector.

Variables en la ecuación								
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,773	,479	2,605	1	,107	2,167	,847	5,544
P16_0_Mes	-,254	,467	,297	1	,586	,775	,311	1,936
HPV_0_mes_			7,473	2	,024			
HPV_0_mes_(1)	1,069	,677	2,496	1	,114	2,912	,773	10,969
HPV_0_mes_(2)	1,833	,686	7,133	1	,008	6,252	1,629	24,001
Cuadrantes_afectos_0_mes	,972	,509	3,654	1	,056	2,644	,976	7,163
Edad	1,222	,504	5,882	1	,015	3,394	1,264	9,112

Tabla 91. Tabla de Variables en la ecuación Modelo Multivariante de Cox – Citología previa, al inicio – P16, al inicio – Genotipos VPH al inicio - Número de Cuadrantes afectados a inicio – Edad > 30 años. (Nota: ver Tabla 70).

Realizada por Juan Manuel Praena.

DISCUSIÓN

Podemos destacar también la variable “**EDAD**”, pues las pacientes **mayores de 30 años** presentan un **HR** de **3,394**, con una **p** de **0,015**, siendo estadísticamente significativa. Estos resultados concuerdan con los estudios de **Katki, H.A et al**(259) y de **Moore, G.**(315), los cuales concluían que las pacientes con lesiones L-SIL, con edad comprendida entre 21 y 24 años, tienen un riesgo menor de desarrollar un H-SIL (CIN III) que mujeres mayores de 25 años.

Así, **concluimos** que las lesiones L-SIL infectadas por virus **VPH-AR 16/18** tienen entre 3 a 6 veces más riesgo de progresar a H-SIL que aquellas que no presentan infección VPH o están infectadas por virus VPH-BR.

Por otra parte, las pacientes **mayores de 30 años** también tienen 3 veces más riesgo de progresar a H-SIL. Esto lo podemos entender por la historia natural y evolución lógica de las lesiones L-SIL, pues precisan un tiempo para progresar.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

7.- CONCLUSIONES.

7.1.- Fortalezas del Estudio.

- **Rutina de seguimiento bien definida y rigurosa.**

Las pacientes fueron seguidas de forma rigurosa cada 6 meses (Ver Apartado 4.4). Aquellas pacientes que por cualquier motivo no acudieron a los controles programados, eran localizadas e invitadas de forma activa a continuar con el Estudio.

También es importante destacar que las biopsias de cérvix se intentaban realizar siempre en la misma localización horaria, o por lo menos en el mismo cuadrante, añadiendo otras biopsias ante la aparición de nuevos hallazgos patológicos en el cuello uterino.

- **Un solo observador realizó el seguimiento.**

Aunque las biopsias iniciales, que sentaron el diagnóstico L-SIL, fueron realizadas por los ocho miembros del servicio de ginecología del Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, el seguimiento fue realizado por un solo observador (investigador principal). De esta manera intentamos evitar el sesgo de las variaciones inter observadores a la hora de realizar la colposcopia.

- **Realización del genotipado viral.**

Pensamos que la realización del Genotipado viral VPH aporta un plus en la información del conocimiento de la historia natural de las lesiones L-SIL, pues como ya se ha expuesto en los resultados, el genotipo número 16 se erige como el genotipo más virulento capaz de incrementar el riesgo de progresión de las lesiones L-SIL.

- **En los criterios de inclusión de las pacientes se **filtró** los **antecedentes de patología previa cervical**.**

Con este procedimiento queríamos seleccionar las lesiones L-SIL desde el inicio, para así conocer mejor su historia natural. Por otra parte, nos interesaba filtrar las lesiones H-

CONCLUSIONES

SIL prevalentes de las incidentes. Este detalle, como es lógico, también aporta información de la evolución de estas lesiones cervicales de bajo grado.

7.2.- Limitaciones del Estudio.

- **Baja prevalencia de lesiones L-SIL en nuestra población.**

La prevalencia de lesiones L-SIL en nuestro medio es baja (0,37%), por debajo de lo comunicado por otros autores (1,19%–1,20%).

- **Seguimiento de corta duración.**

En el estudio de **Liao et al**(258), se reflexiona sobre la necesidad de realizar un seguimiento de muchos años para que células que sobre expresan la proteína P16 se transformen en células displásicas inducidas por el virus VPH. Ellos realizaron un seguimiento de 2 años y afirman que prolongar el tiempo de seguimiento podría ser necesario para confirmar la **validez predictiva** de la prueba P16INK4A.

También recogimos en el apartado 2.4, que recientes estudios sugieren que se requiere un **alto nivel de expresión de P16 INK4a** para mantener el crecimiento neoplásico de las células transformadas por el virus del papiloma humano(184).

No podemos cuantificar la producción de proteína P16, sólo hemos realizado un diagnóstico cualitativo. Por tanto, cabe pensar que dos células con inmunotinción P16 (+) pueden expresar cuantitativamente una cantidad de P16 diferente. Así, cualitativamente se muestran iguales pero cuantitativamente no lo son.

- **Número limitado de pacientes.**

Nuestro proyecto reclutó a 124 pacientes, de los cuales iniciaron el seguimiento 113. Otros estudios prospectivos presentaron muestras de tamaño similar: **Pacchiarotti et al** (113 pacientes); **Liao et al** (133 pacientes); **del Pino et al** (138 pacientes).

Un tamaño muestral inadecuado es generalmente la causa de una baja potencia para detectar efectos clínicamente relevantes(316;317). Por tanto, no se encontraron evidencias para rechazar la Hipótesis nula (Ho).

CONCLUSIONES

7.3.- CONCLUSIONES de estudios anteriores.

7.3.1.- Estudios PROSPECTIVOS.

- **Del Pino et al(25):** (Estudio Prospectivo, 2009):
Concluyen que las lesiones de **CIN I P16 INK4a positivas** tienen una tendencia significativamente mayor para el progreso a CIN II-III, que las pacientes con lesiones CIN I negativas para P16 INK4a, pues rara vez progresan. Por lo tanto, **P16 INK4a puede tener un papel importante en la evaluación de las lesiones de CIN I**, porque puede excluir aproximadamente la mitad de los casos CIN I de un intensivo seguimiento clínico.
- **Pacchiarotti et al(248):** (Estudio Prospectivo, 2013):
Mientras que la **sobreexpresión de P16** es un **buen candidato para la modulación de la intensidad de seguimiento** después de una colposcopia negativa, este **biomarcador de inmunohistoquímica**, sobre la base de las biopsias guiadas por colposcopia, está **limitado por los límites de sensibilidad intrínsecas de la propia colposcopia**.
- **Cortecchia et al(24):** (Estudio Prospectivo, 2013):
Concluyen que las pacientes con **CIN I P16-positivas** tenían un mayor riesgo de progresar a CIN II+ y que ello se concentró en el primer año de seguimiento. Aunque este hallazgo tendrá que ser confirmado con otros estudios, se sugiere que la inmunotinción de P16 podría tener un papel en la **planificación de la vigilancia a corto plazo de los pacientes con CIN I**. También se necesitan más estudios para evaluar si este biomarcador puede predecir a medio plazo los resultados a largo plazo de la enfermedad. Así, es preciso realizar un estudio prospectivo de suficiente duración y con un seguimiento activo para aclarar el resultado a medio y largo plazo de las lesiones CIN I P16-positivas.
- **Liao et al(258):** (Estudio Prospectivo, 2014):
En general, la **sobre expresión de la P16 INK4a** se asocia fuertemente con el grado de CIN y el riesgo de progresión a CIN de alto grado en mujeres con lesiones de bajo grado.
La P16 INK4a puede ayudar en el tratamiento clínico de CIN I.

CONCLUSIONES

Las mujeres con **CIN I** y **sobreexpresión de la proteína P16 INK4a** pueden beneficiarse de un **seguimiento más estrecho con intervalos cada 6-12 meses**, en comparación con aquellas pacientes P16 INK4a negativas.

- **Sagasta et al(242):** (Estudio Prospectivo, 2015):
Concluyen que sus resultados muestran que la **sobre expresión de P16** en biopsias de mujeres con LSIL/CIN I es un **pobre predictor de riesgo de progresión a H-SIL/CIN II-II** y tiene **muy bajo o ningún valor como marcador de progresión de L-SIL/CIN I** en práctica clínica. Además añaden que **el uso de P16 en lesiones L-SIL/CIN- I debe limitarse a los casos dudosos** en los que H-SIL/CIN-II está incluido en el diagnóstico diferencial.

7.3.2.- Estudios RETROSPECTIVOS.

- **Negri et al(208):** (Estudio Retrospectivo, 2004):
Concluyen que los casos **CIN I** con tinción de **P16 INK4a difusa** tuvieron una tendencia significativamente mayor a progresar a una lesión de alto grado que los casos P16 INK4a negativo.
Por lo tanto, la técnica de inmunohistoquímica P16 INK4a podría **ayudar a aclarar la definición**, algo confusa, **de lesión displásica de bajo grado y a distinguir las lesiones displásicas verdaderas, con mayor riesgo de progresión**, de aquellas que más se podría definir con el término genérico de lesiones "inducidas por el efecto citopático del virus VPH".
- **Hariri and Oster(55):** (Estudio Retrospectivo, 2007):
Afirman que el **valor predictivo negativo de P16 INK4a** para predecir el resultado de los casos de CIN I es alto (96%), lo cual sugiere un **papel importante de P16 INK4a en la evaluación de este tipo de lesión**.
- **Ozaki et al(287):** (Estudio Retrospectivo, 2011):
Comunican que en su estudio, la determinación de los biomarcadores **P16** y ProExC, son **útiles para el diagnóstico de CIN**, y tienen **potencial como factores de predicción del riesgo de progresión CIN I**.

CONCLUSIONES

- **Mills et al(318):** (Estudio Retrospectivo, 2015).

Concluyen que la determinación de la **proteína P16 IHC** en pacientes **CIN I no puede estratificar el riesgo de manera que pueda alterar la gestión recomendada para CIN I**. La determinación de la P16 no revela el “riesgo oculto” en las lesiones CIN I. Así, los riesgos entre CIN I P16 IHC-positivo y P16 IHC-negativo no fueron lo suficientemente diferentes para que un resultado positivo lograra una gestión diferente.

En este estudio tiene **más valor**, para **estratificar el riesgo de progresión a H-SIL**, la **presencia de VPH de alto riesgo y Citología previa de alto grado**.

Esto refuerza las **recomendaciones para realizar la prueba P16**, siendo sólo **utilizada** de forma selectiva para los **escenarios problemáticos**, tales como CIN II, (dudas diagnósticas entre CIN I y CIN II) y **lesiones benignas imitadoras de CIN III**. Así, la aplicación universal en las biopsias CIN I no está justificada.

CONCLUSIONES

7.4.- CONCLUSIONES de nuestro estudio.

1. La determinación de la **sobre expresión de la proteína P16** en muestras histológicas de lesiones L-SIL (CIN I), **no** es un **marcador predictor de progresión** a lesiones de alto grado H-SIL o cáncer invasor de cuello uterino.
2. Las pacientes **mayores de 30 años** tienen mayor riesgo de progresión a lesiones de alto grado H-SIL.
3. Las pacientes **infectadas** por genotipos virales **VPH de Alto Riesgo** número **16 y 18**, presentan mayor riesgo de progresión a lesiones de alto grado.
4. Destacamos la importancia de la **citología previa** a la realización de la colposcopia, ya que con el barrido cervical tomamos células de todos los cuadrantes del cuello uterino, mejorando así la sensibilidad de la colposcopia y poniendo en evidencia las lesiones H-SIL subyacentes.
5. Resaltamos también la importancia del **número de cuadrantes cervicales afectados**, ya que lesiones más extensas podrían “esconder” lesiones de alto grado H-SIL.
6. Cabría plantearse un **control más estrecho el primer año** de seguimiento de las lesiones L-SIL, pues parece que la evidencia apunta que la mayoría de los casos de progresión lo hacen en el primer año, disminuyendo su incidencia posteriormente.
7. Como ya comentamos anteriormente, las **debilidades de nuestro estudio** son el **tamaño muestral** y el **tiempo de seguimiento**. Ante ello, no podemos extraer conclusiones fidedignas para aconsejar incluir la determinación de esta proteína en los programas de seguimiento de la patología cervical L-SIL (CIN I). Necesitaríamos estudios más amplios y de mayor seguimiento para confirmar la utilidad clínica de esta proteína.
8. Las **variaciones topográficas** de la sobre expresión de la **proteína P16** que hemos expuesto, nos harían sugerir realizar la determinación de la **proteína P16** mediante **citología**, así podríamos tomar muestra con el cepillado de todos los cuadrantes del

CONCLUSIONES

cuello uterino y no estaríamos limitados a la baja sensibilidad intrínseca de la biopsia guiada por colposcopia.

9. Por tanto, a día de hoy, **concluimos** que la **utilidad clínica de la Proteína P16, determinada en muestras histológicas**, es la establecida por la American Society for Colposcopy and Cervical Pathology y el College of American Pathologists(31;209;210) que en el año 2012 propuso las siguientes **recomendaciones para el uso de la técnica P16** en el diagnóstico histológico:

- **Diagnóstico diferencial** entre lesión precursora de alto grado H-SIL (CIN III) y **entidades histológicas simuladoras** como la metaplasia escamosa inmadura, atrofia, cambios epiteliales reparativos, corte tangencial, etc.
- **Herramienta de decisión** en los casos en los que existe **desacuerdo entre los diferentes profesionales en la interpretación histológica** y el diagnóstico diferencial con lesiones precursoras de alto grado. Por tanto, la determinación de la proteína P16 puede ser utilizada para el entrenamiento de nuevos patólogos con insuficiente experiencia en el diagnóstico de lesiones dudosas, y puede ser considerado como un sustituto de la revisión por un panel de expertos en la evaluación de casos de difícil diagnóstico.
- **Diagnóstico diferencial** entre **L-SIL** (CIN I) y **H-SIL** (CIN II-III). La sobreexpresión difusa de la proteína P16 (positividad), es una evidencia a favor de H-SIL mientras que la negatividad o la positividad focal, indican L-SIL o lesiones no relacionadas con VPH.

ANEXOS

8.- ANEXOS.

8.1.- Metodología en la realización de la citología.

El medio utilizado en nuestro centro es: **CITOLOGÍA LÍQUIDA** (Imagen 12) Shandon PapSpin. (Thermo Scientific). (www.thermofisher.com), **solución PreservCyt** (Hologic Corp, Marlborough, MA, EE.UU.) para **ThinPrep citología de base líquida** y la prueba de VPH de alto riesgo.



Imagen 12. ThinPrep citología de base líquida.
Elaboración propia.

Se recomienda la utilización de la citología en medio líquido sobre la citología convencional por los siguientes motivos:

- Requiere menor tiempo de cribado.
- Reduce los errores de interpretación, pues disminuye el cansancio del observador.
- Permite la lectura automatizada.
- Disminuye el número de muestras insatisfactorias. Con esta técnica se obtiene una disminución en el número de muestras inadecuadas(319-321). Sin embargo no se evidencia un aumento significativo en la tasa detección de lesiones intraepiteliales de alto grado, por tanto, no mejora la sensibilidad de la citología convencional(322).
- Facilita la lectura por el fondo limpio y la disposición homogénea de las células en monocapa.
- Permite realizar el **estudio “réflex”**, pudiendo determinar la detección por PCR del virus del papiloma humano. Ello reduce segundas consultas. Nosotros comenzamos con el estudio “réflex” en nuestro servicio desde el mes de marzo de año 2015. Anteriormente disponíamos de un medio para realizar citología líquida y otro para

ANEXOS

realizar el genotipado del VPH por PCR. La utilización del método “réflex” es masivo en Europa(320).

- Mejora la eficiencia.

Respecto a la citología tradicional, en una revisión realizada en 15 series de varios países europeos y americanos, se detectó una sensibilidad para detectar CIN II+ del 61,3%, con una importante dispersión de los resultados (18,6–94) y una especificidad del 93,5% (77,8–99,5)(323-325).

Un estudio sobre la implementación de los programas de cribado en Europa refleja la gran variabilidad de los resultados citológicos anómalos observados en los distintos países, desde el 1,2% de Alemania al 11,7% en la zona oeste de Irlanda, así como su distribución según grados lesionales(326). Por tanto, las *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening* hace hincapié en la necesidad de llevar a cabo un adecuado control de calidad en cada uno de los aspectos relacionados con esta técnica, desde la calidad de la toma, transporte, procesamiento, lectura e interpretación. Así, en nuestro servicio hemos realizado un diseño de las funciones de cada profesional sanitario que interviene en este proceso (Arquitectura 4) y un Plan de Seguridad.

Como programa interno de calidad practicamos un **doble cribado** en el 10% de las citologías negativas. Este doble cribado se realiza por los patólogos de nuestra unidad, filtrando el 10% de las lecturas de citologías negativas realizadas por los 3 cito técnicos del servicio de anatomía patológica de nuestro hospital.

8.1.1.- Facultativo:

- Especuloscopia. (sin lubricación).
- Visualización cervical.
- Limpieza de restos hemáticos sin arrastre (no del moco).
- Colocación del cepillo PAPETTE en contacto con el cérvix uterino, sobre el orificio cervical externo, introduciendo las cerdas centrales en el canal endocervical hasta que las cerdas más cortas toquen completamente el exocérnix. Manteniendo una suave presión hacia el cérvix, girar cinco vueltas horarias el escobillón.
- Extraer el cepillo y entregarlo al auxiliar.
- Retirar el espéculo.

ANEXOS

8.1.2.- Auxiliar de enfermería:

- Entrega del espéculo al facultativo.
- Preparación del cepillo y bote de muestras.
- Identificación del recipiente de muestras (código de barras).
- Recepción del escobillón tras la toma.
- Con la mano enguantada se extraerá el mango del extremo de cerdas blancas del cepillo PAPETTE.
- Introducción del terminal de cerdas en el vial de líquido PapSpin identificado y agitar. Colocar la tapa en el vial y cerrarlo herméticamente. Agitar el recipiente.
- Identificación de la muestra con nombre, apellidos del facultativo y fecha de la recogida. (código de barras en su reverso).
- Recordar al facultativo su identificación y solicitud en el programa informático.
- Coloca el identificativo especial en bolsa de transporte. (La bolsa de transporte debe incluir las pegatinas identificativas y la muestra).
- Almacenamiento y transporte de las muestras diariamente o por turnos, en un medio isotérmico.

8.1.3.- Sistema de Bethesda 2001(60).

Calidad del espécimen.

- Satisfactorio para la evaluación.
- No satisfactorio para la evaluación.
 - Especimen rechazado (no tratado).
 - Especimen tratado y examinado, pero no satisfactorio para evaluar las anomalías de las células epiteliales (causa por precisar).

Categorías generales (opcional).

- Sin lesión intraepitelial o de malignidad.
- Anomalías de las células epiteliales (véase interpretaciones /diagnósticos a continuación).

Interpretaciones / diagnósticos

- No neoplásico

- Agentes patógenos.
 - *Trichomonas vaginalis*.
 - Estructura micética compatible con *Cándida*.
 - Desequilibrio de la flora vaginal.
 - Bacterias de morfología compatible con *Actinomyces*.
 - Efectos citopatogénicos debidos al virus herpes
- Modificaciones no neoplásicas.
 - Modificaciones celulares reactivas secundarias a inflamación, radioterapia o a la presencia de un dispositivo intrauterino.
 - Persistencia de células glandulares benignas tras histerectomía.
- Otras modificaciones neoplásicas.

- Otros.

- Presencia de células endometriales (en las mujeres de 40 años o más).

- Anomalías de las células epiteliales

- Células Malpighianas.
 - Atipias de las células Malpighianas.
 - De significado indeterminado (ASC-US).
 - Lesión de grado alto no puede excluirse (ASC-H).
 - Lesión Malpighiana intraepitelial de grado bajo (LSIL) que incluye las displasias discretas /CIN I.
 - Lesión Malpighiana intraepitelial de grado alto (H-SIL) que incluye las displasias moderadas y graves, CIS / CIN II y CIN III con caracteres que sugieren una invasión.
 - Carcinoma malpighiano.
- Células glandulares.
 - Atipias de células endocervicales, células endometriales o células glandulares.

ANEXOS

- Atipias de las células glandulares / endocervicales, orientadoras de un proceso neoplásico.
- Adenocarcinoma endocervical in situ.
- Adenocarcinoma: endocervical, endometrial, extrauterino o sin otra precisión.
- Otro neoplasma maligno.

8.2.- Metodología en la determinación de VPH.

PCR son las siglas en inglés de *Polymerase Chain Reaction* o **Reacción en cadena de la Polimerasa**. La idea básica de la técnica es sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una enzima polimerasa, que puede trabajar a temperaturas muy elevadas, ya que proviene de la bacteria *Thermus aquaticus* que vive a altas temperaturas (79 °C a 85°C). Cuando hacemos una reacción de PCR simulamos lo que sucede en una célula al sintetizar el ADN y en el tubo se mezclan todos los ingredientes necesarios para hacerlo: la polimerasa, el ADN que queremos estudiar –donde se encuentra el fragmento que queremos sintetizar–, los oligonucleótidos necesarios para que se inicie la transcripción, dinucleótidos (dNTP), y las condiciones para que la enzima trabaje adecuadamente (cierto pH, determinadas cantidades de magnesio en forma de MgCl₂, KCl, y pueden necesitarse otras sales o reactivos, dependiendo de cada polimerasa). Esta técnica tan ingeniosa tiene muchísimas aplicaciones distintas y se ha convertido en una herramienta muy importante en la biología molecular.

El procedimiento de la toma de muestra y la codificación son los mismos que en la citología líquida.

La prueba se basa en la amplificación de los 450 pares de bases en la región L1 usando cebadores consenso PGM1 (primer en inglés). Además, la prueba amplifica una región del gen de la β -globina como control interno.

El genotipado en nuestro hospital lo realizamos con el método **HPV LINEAR ARRAY Genotyping Test (Roche CE-IVD Test Kit for HPV Genotyping W)**, que es una prueba **semiautomática** (parte se realiza de forma manual y parte de forma automática), **cualitativa** in vitro para la detección del virus del papiloma humano en la práctica clínica.

Utiliza la amplificación del ADN diana mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación posterior del ácido nucleico obtenido, con sondas específicas fijadas sobre una tira de nitrocelulosa que tiene una lectura colorimétrica.

El test detecta **treinta y siete** genotipos de ADN del **HPV** anogenital: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72,

ANEXOS

73, 81, 82, 83, 84, IS39 y CP6108 en células cervicales obtenidas por cepillado del mismo y conservadas mediante el medio PreservCyt.

La técnica se basa en **cuatro procesos principales**:

- **preparación** de las muestras,
- **amplificación** mediante técnica de PCR del ADN viral VPV a través de primers o cebadores,
- **hibridación** de los productos amplificados con sondas oligonucleótidas
- **detección** de los productos amplificados, fijados a las sondas, mediante determinación colorimétrica.

Un **partidor** o **cebador** o **iniciador** o **primer**, es una cadena de ácido nucleico o de una molécula relacionada que sirve como punto de partida para la replicación del ADN. Es una secuencia corta de ácido nucleico que contiene un grupo 3'hidroxilo libre que forma pares de bases con una hebra molde complementaria y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde.

La mayoría de las ADN polimerasas, enzimas que catalizan la replicación del ADN, no pueden empezar a sintetizar una nueva cadena de ADN de la nada, sino que sólo pueden añadir a un hilo de nucleótidos preexistente. Se necesitan dos partidores para la reacción de PCR, uno en el extremo 3' y el otro complementario 5' para el otro extremo. Son de aproximadamente 20 nucleótidos, porque es la cantidad necesaria para que de manera probable coincida en un sitio de la cadena de ADN.

Comúnmente un par de iniciadores son usados en PCR para definir los extremos del producto que se desea amplificar, y a partir de ellos la DNA polimerasa utilizada inicia la polimeración en dirección 5' - 3'.

Estas técnicas pueden utilizarse en cualquier tipo de muestra, tanto en células en suspensión, células sobre portaobjetos, como en muestras histológicas. Estos métodos diagnósticos son muy sensibles, pero pueden presentar problemas de especificidad, ya que ocasionalmente detectan secuencias similares pero no exactas al ADN problema (falsos positivos).

En esta primera tabla se muestran los límites de resultados de detección para la prueba de genotipado del **HPV LINEAR ARRAY**. Para cada uno de los 18 genotipos del HPV, se

ANEXOS

llevó a cabo un análisis Probit. El ADN plásmido (cuantificado por espectrofotometría, absorción de 260 nm) de cada uno de los genotipos se diluyó en al menos 5 niveles de concentración en solución PreservCyt con 250 ng/ml de ADN genómico humano como diluyente. Dos usuarios realizaron cada uno un mínimo de 4 experimentos consistentes en al menos 3 réplicas por nivel de concentración para un total de al menos 24 réplicas por nivel. La concentración de la tasa de resultados positivos del 95% esperada para cada genotipo se muestra en la Tabla 92.

Límite de los resultados de detección para la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY

Genotipo de HPV	Concentración de la tasa de resultados del 95% (c/ml) según Probit	LOD observado (concentración \geq tasa de resultados positivos del 95%) (c/ml)
6	2.319	2.000
16 [#]	195	200
18 [#]	580	1.300
26	2.935	6.000
31 [#]	1.863	6.600*
33 [#]	4.000	20.000**
35 [#]	466	600
39 [#]	1.367	1.500
45 [#]	401	900
51 [#]	181	260
53	256	400
56 [#]	6.915	12.000
58 [#]	185	250
59 [#]	53	76
66	250	300
68 [#]	848	900
73	165	300
82	8.089	20.000

Tabla 92. Límite de los resultados de detección para la prueba de genotipado del HPV.

La Inclusividad de los genotipos se determinó mediante el análisis de **36 plásmidos** de genotipo de **VPH** (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 y CP6108). Los resultados demostraron que la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY puede detectar 36 genotipos de VPH a partir de ADN plásmido de VPH en varios niveles de concentración según el genotipo de VPH. Ello se muestra en la Tabla 93.

Inclusividad de los genotipos para la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY

Genotipo de HPV	Nivel de inclusividad* (copias/ml)	Genotipo de HPV	Nivel de inclusividad* (copias/ml)
6	2.319	59#	53
11	900	61	900
16#	195	62	900
18#	580	64	300.000
26	2.935	66	250
31#	1.863	67	30.000
33#	4.000	68#	848
35#	466	69	900
39#	1.367	70	900
40	70.000	71	900
42	30.000	72	900
45#	401	73	165
51#	181	81	900
53	256	82	8.089
54	900	83	900
55	900	84	900
56#	6.915	CP6108	900
58#	185	IS39	1.500

Tabla 93. Genotipos incluidos en la prueba de genotipado del HPV Linear Array.

La reproducibilidad de la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY para los genotipos 16, 18, 31 y 45 se muestra en la Tabla 94. Así, para estos genotipos, se obtiene una tasa de resultados positivos del 99% en 2.000 copias/ml, y en la concentración baja. Una tasa de resultados positivos del 100% para dichos genotipos se obtuvo en concentraciones medias y altas.

Reproducibilidad para la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY

Miembro del panel	ADN de HPV 16 (copias/ml)	ADN de HPV 18 (copias/ml)	ADN de HPV 31 (copias/ml)	ADN de HPV 45 (copias/ml)	Número probado	Resultados de la prueba de genotipado del HPV LINEAR ARRAY HPV positivo		
						Resultados positivos	%	95% IC
Alta	12.000	81.500	192.000	25.100	135	135	100%	98-100%
Media	1.200	8.150	19.200	2.510	135	135	100%	98-100%
Baja	360	2.445	5.760	753	135	133	99%	95-100%
2.000 (c/ml)	2.000	2.000	2.000	2.000	135	133	99%	95-100%

Tabla 94. Reproducibilidad para la prueba de genotipado del HPV Linear Array.
(c / ml = copias/mililitro)

8.2.1.- Preparación de la muestra. (PREPARACIÓN-EXTRACCIÓN).

Las muestras se **almacenaron provisionalmente** a **4 ° C** hasta su posterior procesamiento. El almacenamiento y conservación definitiva de las muestras se realizó a **- 80 ° C**.

Mediante el kit de **extracción de material líquido AmpliLute**, se prepara el ADN del VPH y el ADN del genoma humano para la amplificación mediante la técnica de PCR.

El **ADN del VPH se libera** por acción de la lisis de células cervicales bajo condiciones de desnaturalización a temperaturas elevadas. Esta lisis se lleva a cabo ante la presencia de la **proteínasa K**, un agente caotrópico (agente químico empleado para la desnaturalización de proteínas, DNA y otras sustancias) y detergente.

A continuación se procede al **aislamiento y purificación del ADN** en una columna y a la elusión (Soslayamiento o evitación de una dificultad o un problema) con el reactivo de elusión. El **gen de la β -globina** (control) se aísla de forma simultánea y garantiza la adecuación celular, la extracción y la amplificación de cada muestra procesada individualmente.



A



B: Micropipeta



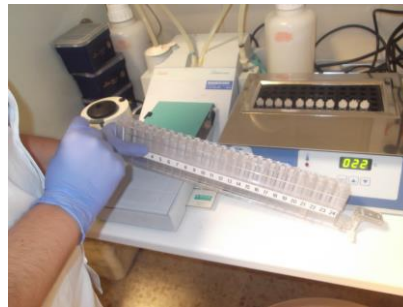
C



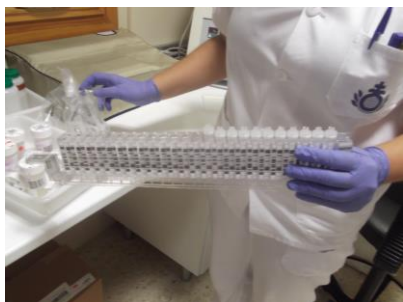
D



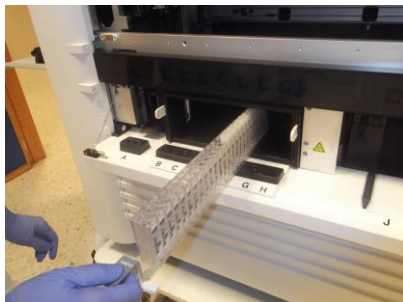
E Termobloque (Calentamiento)



F



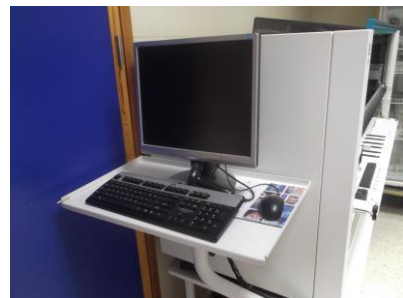
G



H Extracción de ADN.



I



J

Imagen 13. Preparación de la muestra para la extracción de ADN.

A, B, C, D: Extracción del material líquido AmpliLute y preparación de la muestra.

E: Termobloque: Aparato generador de temperatura para producir la lisis celular.

F, G, H, I, J: Proceso de extracción del ADN viral de forma automatizada

Elaboración propia.

8.2.2.- Amplificación mediante PCR. (AMPLIFICACIÓN).

Los **primers (cebador)** incluidos están diseñados para **amplificar el ADN de 37 genotipos del VPH**

En una **primera amplificación**, mediante la **enzima polimerasa *AmpliTaq***, en presencia de magnesio (Mg^{2+}) y un exceso de trifosfato desoxirribonucleósidos (dNTP), sometiendo a la muestra a **diferentes ciclos de temperatura**, se realiza la amplificación de la región del genoma de VPH y del gen β -globina, comprendidos entre el par de primers adecuado. No se amplifica el genoma completo.

La **segunda amplificación** es **selectiva** y se lleva a cabo mediante la acción de la **enzima *Amperasa*** (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP)



A



B

Imagen 14. Termociclador.

A, B: Termociclador.

Elaboración propia.

ANEXOS

8.2.3.- Reacción de hibridación.

Después de la amplificación mediante PCR (**Amplicón**: conjunto de moléculas de ADN idénticas que resulta de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR)), se añade una **solución de desnaturalización** (desnaturaliza el ADN; se separan las dos hebras de las cuales está constituido). Este paso puede realizarse de diferentes modos, siendo el calentamiento (94-95 °C) de la muestra la forma más habitual. Otros métodos, raramente empleados en la técnica de la PCR, serían la adición de sales o agentes químicos capaces de realizar la desnaturalización, para desnaturalizar el **amplicón**.



Imagen 15. Solución desnaturalizante.
Elaboración propia.

ANEXOS

A continuación, se transfieren alícuotas del amplicón **desnaturalizado** a los correspondientes pocillos de la bandeja de tipificación, que contiene cada uno tapón de hibridación y una única tira de genotipado del HPV LINEAR ARRAY revestida con **sondas VPH** y **sondas de β -globina** (control).

El **amplicón marcado con biotina** se hibridará con alguna de las sondas oligonucleótidas sólo si el amplicón contiene la secuencia correspondiente de la sonda complementaria.



Imagen 16. Se añaden alícuotas de amplicón desnaturalizado.
Elaboración propia.

8.2.4.- Reacción de detección. (DETECCIÓN COLORIMÉTRICA).

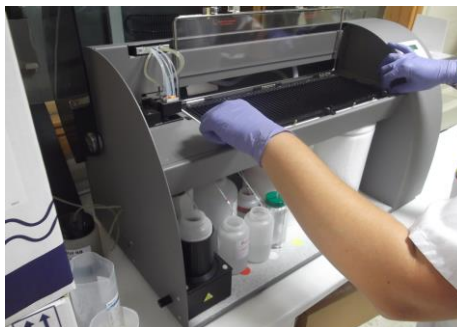
Después de la reacción de hibridación, la tira de genotipado del HPV LINEAR ARRAY se lava a conciencia para eliminar todo el material no fijado.

A continuación se añade a la tira **el conjugado**, el cual se une al amplicón marcado con biotina e hibridado con las sondas oligonucleótidas sobre la tira.

Tras lavar de nuevo la tira para eliminar el conjugado no fijado, se añade a cada tira una **solución de sustrato** que revela **un complejo de color azul** que se precipita en las posiciones de las sondas donde tiene lugar la hibridación.



A



B Aparato de Hibridación automatizada.



C



D

Imagen 17. Reacción de detección: detección colorimétrica.

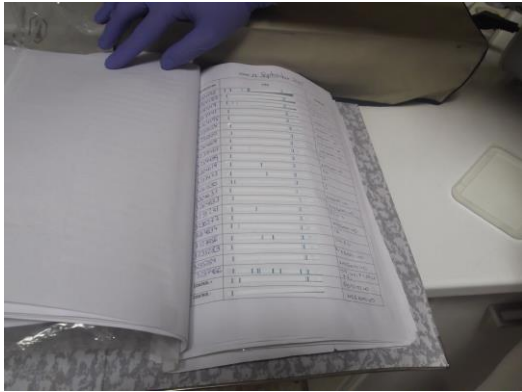
A, B, C: Aparato de Hibridación automatizada.

D: Tiras de nitrocelulosa dispuestas en la bandeja del aparato de hibridación.

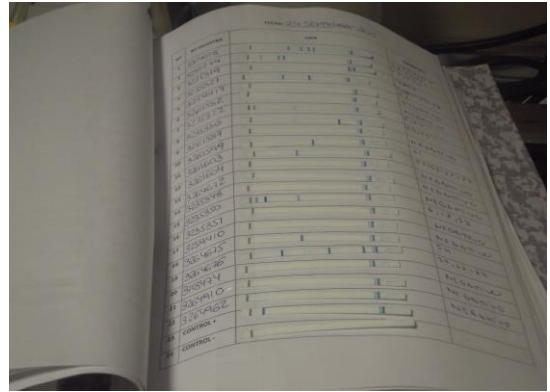
Elaboración propia.

ANEXOS

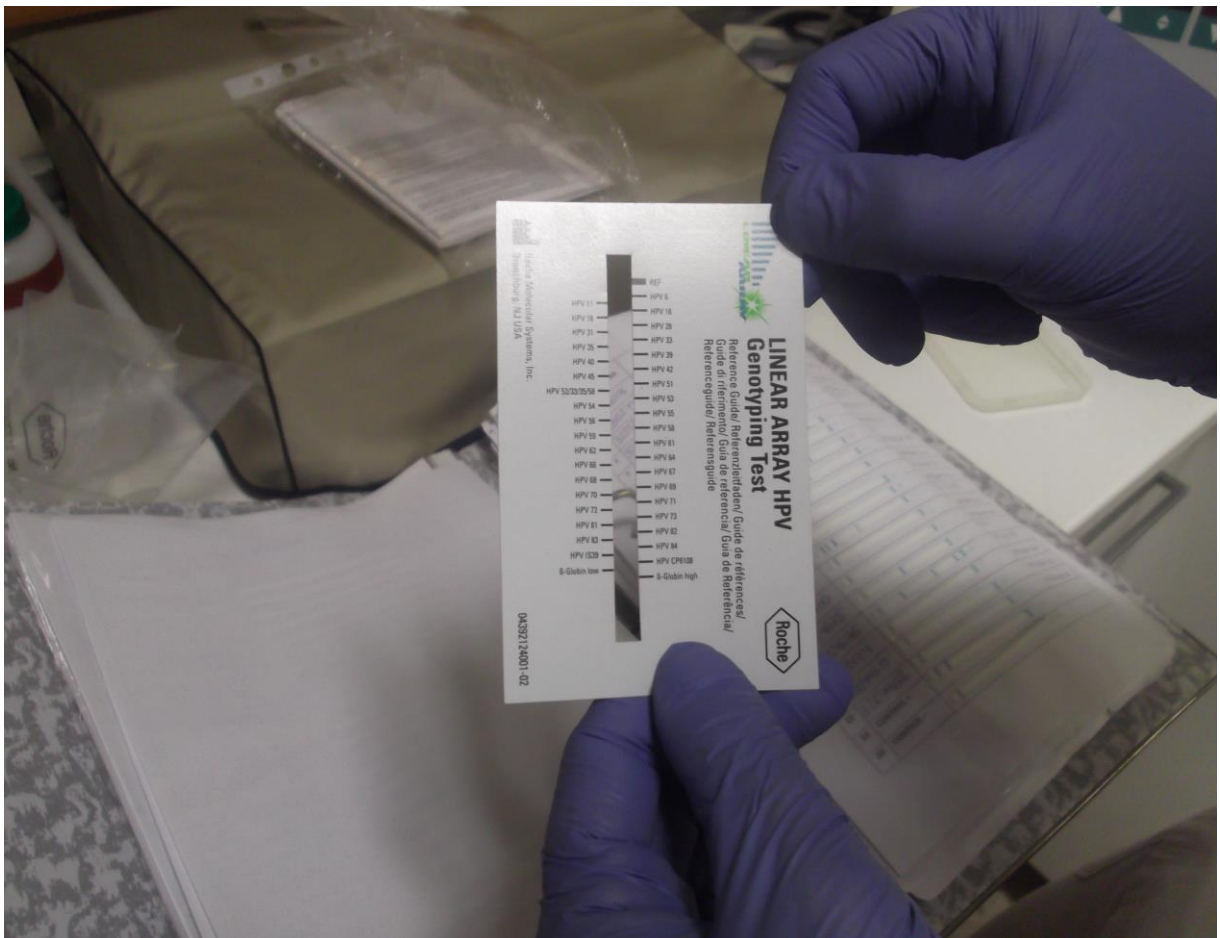
Las tiras de genotipado del HPV LINEAR ARRAY se leen visualmente (lectura colorimétrica) comparando el **patrón de las líneas azules** con la **guía de referencia** de la tira de genotipado del HPV LINEAR ARRAY.



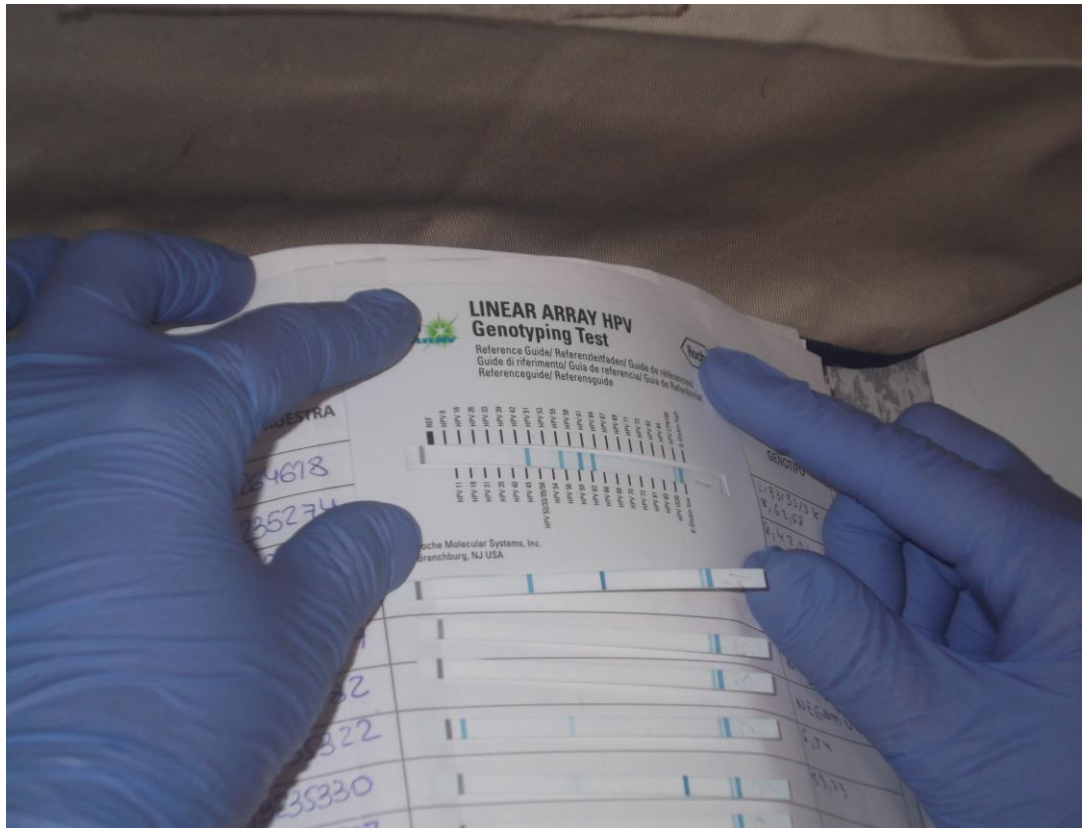
A



B



C



D

Imagen 18. Lectura colorimétrica de las tiras de nitrocelulosa de genotipado HPV.

A, B: Libro de registro de Tiras de nitrocelulosa de las pacientes.

C: Patrón o guía de referencia para realizar la lectura del genotipado.

D: Lectura colorimétrica de las tiras de nitrocelulosa de genotipado HPV Linear Array.

Elaboración propia.

8.3.- Metodología en la realización de P16.

La detección de la expresión de la proteína P16 en las biopsias cervicales se ha realizado en el Departamento de Anatomía Patológica, dentro de la Unidad de Diagnóstico del Laboratorio en el Hospital San Juan de Dios del Aljarafe. Este proceso consta de tres fases:

Una primera consiste en confirmar histológicamente los casos de LSIL reclutados del screening citológico que tras estudio colposcópico son biopsiados. En esta fase además se selecciona el tejido más adecuado para el siguiente paso.

En la segunda, realizamos la técnica de inmunohistoquímica.

En la tercera se procede al estudio con microscópico óptico de los tejidos, para evaluar la expresión de p16.

8.3.1.- Estudio histológico.

La mucosa malpighiana del cuello uterino puede dividirse en tres capas (Figura 3):

- La **capa basal** está formada por una sola hilera celular que asegura la unión entre la membrana basal (corion) y las capas más superficiales de la mucosa.
- La **capa parabasal**, formada por dos o tres hileras celulares, es el compartimento proliferativo de la mucosa, en el que se observan las mitosis en condiciones normales.
- En las **capas más superficiales** las células se vuelven más maduras y alargadas a medida que ascienden a la superficie del epitelio.

Las **lesiones escamosas intraepiteliales** causadas por el virus del papiloma humano son morfológicamente idénticas en todas las localizaciones del tracto ano-genital inferior de ambos sexos: vulva, vagina, cérvix, ano, región perianal y pene. Así, como ya expusimos en el apartado 2.6, para formalizar una terminología uniforme de esta patología, el *College of American Pathologists* (Colegio Americano de Patólogos CAP) y la *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* (Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical, ASCCP) convocaron en marzo de 2012 una conferencia conjunta con 35

ANEXOS

organizaciones relacionadas. Consensuaron un sistema de nomenclatura histopatológica denominado **LAST** (*Lower Anogenital Squamous Terminology*) y así poder facilitar la comunicación entre los distintos especialistas implicados(31). La **terminología LAST** clasifica las lesiones escamosas intraepiteliales (SIL) asociadas al virus del papiloma humano en dos grados: lesiones de bajo grado (L-SIL) y lesiones de alto grado (H-SIL). La clasificación utiliza la misma terminología que la empleada para los resultados citológicos con el sistema Bethesda 2001(60). Los criterios histopatológicos que definen estas lesiones son(31):

- **LSIL:** proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales, incluyendo aumento del tamaño nuclear, membrana nuclear irregular e incremento de la relación núcleo/citoplásmica. Hay poca maduración del citoplasma en el tercio inferior del epitelio, pero la maduración comienza en el tercio medio y es relativamente normal en el tercio superior. Las figuras mitóticas están presentes sólo en la parte inferior del epitelio. Por otra parte, puede observarse la presencia de coilocitosis, efecto citopático característico de la infección por HPV. Dicha coilocitosis se caracteriza por multinucleación, agrandamiento nuclear y pleomorfismo, acompañado por halos perinucleares, sin las características de una lesión de alto grado.
- **HSIL:** proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales, incluyendo aumento de tamaño nuclear, membrana nuclear irregular e incremento de la relación núcleo/citoplásmica, acompañada de figuras de mitosis. Hay poca o nula diferenciación citoplasmática en los tercios medio y superficial del epitelio. Las figuras mitóticas no se limitan al tercio inferior del epitelio y se pueden encontrar en la parte media y/o superficial.

Una contribución importante de la terminología LAST es que se propone utilizarla en todas las lesiones escamosas intraepiteliales asociadas a la infección por el virus del papiloma humano, independientemente de su localización: cuello uterino, vagina, vulva, ano, región perianal o pene. Dicha terminología permite que la información expresada en los informes se pueda complementar con la terminología clásica: neoplasia intraepitelial (**IN**) y la sigla correspondiente a su localización: cuello uterino (**CIN**), vagina (**VaIN**), vulva (**VIN**), ano (**AIN**), perianal (**PAIN**) y pene (**PeIN**), acompañada de la graduación (-**IN 1, 2 o 3**).

ANEXOS

Tras la realización de la colposcopia, que selecciona áreas cervicales en base a los distintos patrones morfológicos (básicamente en dos grandes grupos, uno con cambios menores y otro con cambios mayores), se toman las biopsias dirigidas que son remitidas en formol, identificadas y reseñadas, a la sección de Anatomía Patológica.

Los criterios diagnósticos histológicos para LSIL son evaluados por cualquiera de los patólogos de nuestra unidad (en número de 3) siguiendo los criterios establecidos para LSIL por la terminología LAST (Figuras 20 y 21. Nota: ver Figuras 17 y 18).

Una vez se diagnostica histológicamente la lesión LSIL, se solicita al equipo de técnicos la realización del estudio inmunohistoquímico.

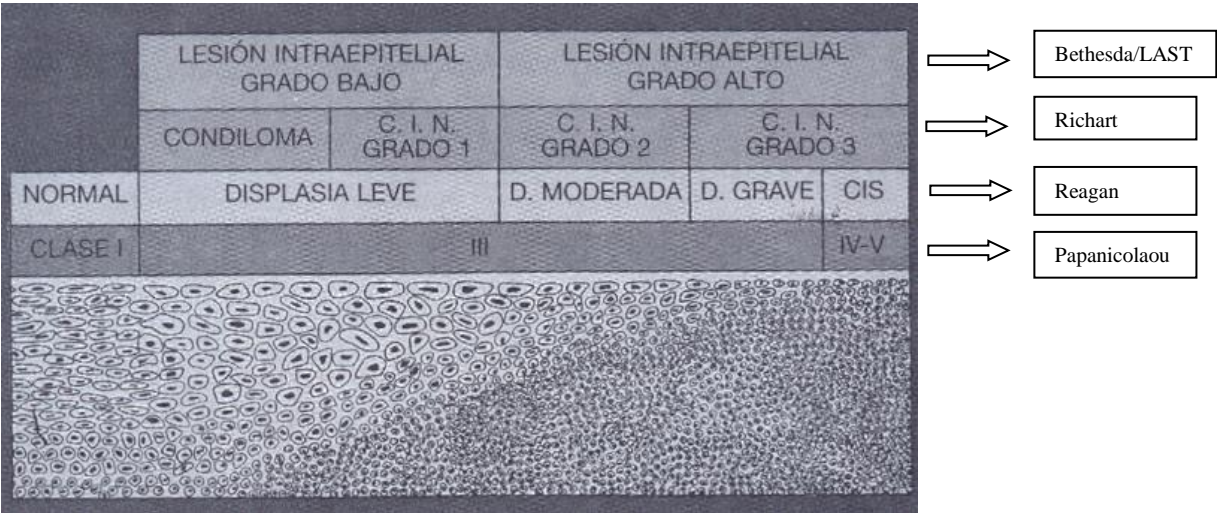


Figura 20. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Papanicolaou, de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST. (Nota: Ver Figura 17). Tomado de la Enciclopedia Médico Quirúrgica – E -597-4-10. Página 4.

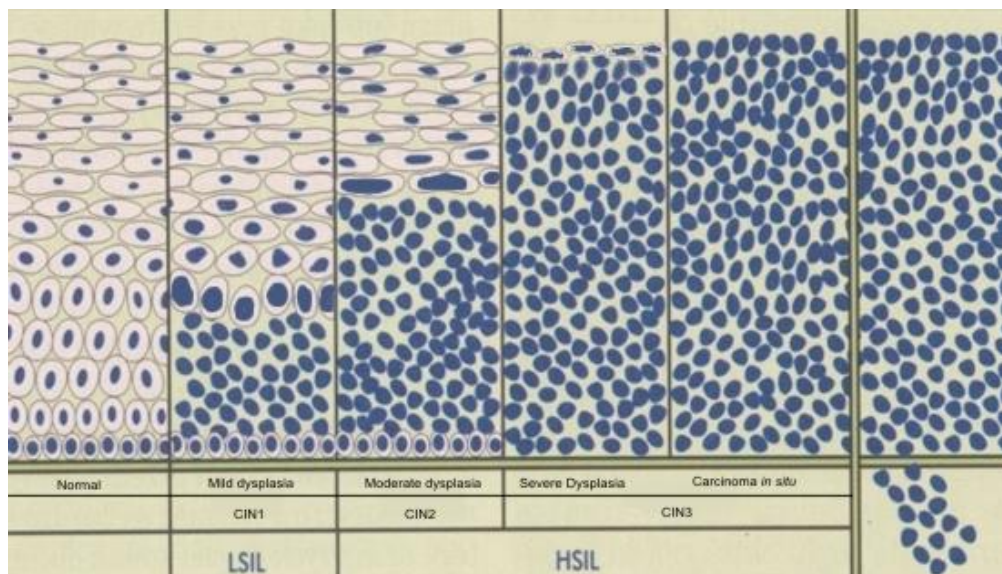


Figura 21. Esquema representativo de las lesiones malpighianas intraepiteliales y de la terminología de la clasificación de Reagan, de Richart y de Bethesda/LAST. (Nota: Ver Figura 18). (Eurocytology.eu).

8.3.2.- Realización de la técnica Inmunohistoquímica.

La técnica inmunohistoquímica es una técnica específica basada en la detección antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos (también conocidos como inmunoglobulinas) son glicoproteínas del tipo gammaglobulinas y son empleadas por el sistema inmune para identificar y neutralizar elementos extraños. Cualquier sustancia extraña se denomina antígeno. El anticuerpo consta de dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Aunque la estructura de todos los anticuerpos es muy semejante, una pequeña región del ápice de la proteína es extremadamente variable y permite la existencia de millones de anticuerpos y cada una de estas variantes se puede unir a una diana distinta existiendo distintos tipos de anticuerpos policlonales, monoclonales y combinados, obtenidos a través de distintas especies animales. Cada uno recibe el nombre del clon al que pertenece.

Los **policlonales** son muy sensibles (se unen a múltiples epitopos) son buenos para screening y fáciles de reproducir. Los **monoclonales** son altamente específicos, obteniéndose una tinción limpia y siendo mejores para diagnóstico. La detección se hace mediante la unión del anticuerpo primario a éstas moléculas por medio de un método indirecto a través de la tecnología del polímero.

ANEXOS

La visualización se realiza mediante moléculas enzimáticas que necesitan la enzima (fosfatasa alcalina), un sustrato y un cromógeno (diaminobecidina) realizándose la visualización e interpretación por parte del patólogo en el microscopio óptico.

En esta fase participan los técnicos de Anatomía Patológica, que tras recopilar los casos solicitados por los patólogos, montan la técnica una vez cada dos semanas. Este procedimiento es automatizado y se pueden procesar hasta 30 casos por sesión de trabajo. La realización del procedimiento de tinción inmunohistoquímica se efectúa mediante el equipo **Inmunoteñidor automatizado (Benchmark XT de Ventana)** (Imagen 23).

Para realizar esta técnica necesitamos el **anticuerpo primario de ratón monoclonal (clon E6H4®)** frente a la proteína P16 INK4a. Este anticuerpo se presenta en un **kit histológico (V-Kit CINTEC)** comercializado por la empresa Roche Diagnostic junto a un reactivo de **control negativo** compuesto por un anticuerpo del mismo isótopo (**IgG 2a**).

Con cada kit se pueden efectuar 50 determinaciones con control interno (100 micro litros de los reactivos por cada portaobjetos) y un tiempo estimado en su realización por sesión de 5 horas.

Las muestras procedentes de biopsias de cérvix, con tamaño menor de 3 mm, se fijan durante 18–24 horas en formol tamponado neutro.

A continuación se deshidratan en distintas diluciones de alcohol y xilol (Imagen 19).



Imagen 19. Soluciones de alcohol y xilol.
Elaboración propia.

Después se lleva a cabo una infiltración de la muestra de biopsia con parafina fundida a una temperatura no superior de 60 ° c.

ANEXOS

Posteriormente se realizan secciones de 3 μm y se transfieren al portaobjetos SuperFlost Plus (Imagen 20).



A



B



C

Imagen 20. Procesamiento de la muestra histológica.

A: Secciones de 3 μm

B : Baño de flotación.

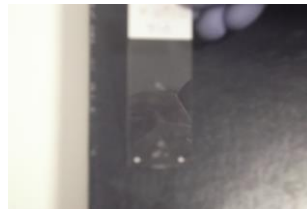
C: Transferencia al portaobjeto SuperFlost Plus.

Elaboración propia.

A continuación se procede a eliminar la parafina mediante calor, en una estufa (Imagen 21).



A



B

Imagen 21. Desparafinado del tejido.

A: Estufa para desparafinar.

B: Tejido desparafinado.

Elaboración propia.

Por último, las muestras se identifican mediante un código de barras (Imagen 22).

ANEXOS



A



B

Imagen 22. Identificación de la muestra.

A: Etiquetadora.

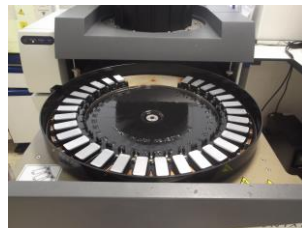
B: Muestra identificada mediante etiqueta con código de barras.

Elaboración propia.

El siguiente paso se realiza de forma automatizada mediante un **Inmunoteñidor automatizado** (Benchmark XT de Ventana) (Imagen 23).



A



B



C

Imagen 23. Inmunoteñidor automatizado.

A, B, C: Inmunoteñidor automatizado (Benchmark XT de Ventana).

Elaboración propia.

Todo el proceso está regido por un software informático (Imagen 24).

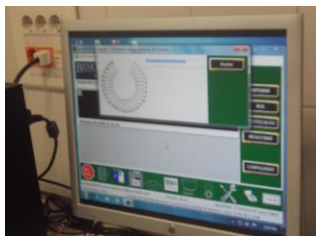


Imagen 24. Software informático del Inmunoteñidor automatizado (Benchmark XT de Ventana).

Elaboración propia.

Así, el tejido del portaobjetos des parafinado se somete a un pre tratamiento con una **solución de recuperación de epítipo** (porción de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmune). Se emplean de forma secuencial y automatizada el **anticuerpo específico**

ANEXOS

primario p16 (anticuerpo monoclonal p16, **clon E6H4**, incluido en el P16 INK4a Histology Kit CINtec) contra el antígeno y un **sistema cromógeno-anticuerpo conjugado con el enzima**. La reacción del cromógeno se basa en la conversión mediante peroxidasa de rábano picante de un cromógeno DAB que forma un producto de reacción visible en la unión antígeno anticuerpo.

Una vez realizada la contra tinción, se procede al montaje, cubriendo la muestra con un cubre.

El número de horas de trabajo del Técnico de Anatomía Patológica fue aproximadamente de 7 horas por sesión, bisemanal.

8.3.3.- Evaluación microscópica óptica de la expresión P16.

La visualización y evaluación de las preparaciones por el patólogo requirió una carga de trabajo invirtiendo un tiempo aproximado de 3 horas cada dos semanas.

La interpretación de los portaobjetos con la tinción para la P16 INK4a mediante el uso de V-Kit CINTEC *Histology* debe realizarse en conjunción con portaobjetos con tinción de hematoxilina eosina, preparados con la misma muestra de tejido de cuello uterino. Así, para llegar a un diagnóstico definitivo se deben de combinar los datos de ambas técnicas.

La interpretación de los resultados se evalúan de acuerdo con el sistema de clasificación, resultando un diagnóstico positivo o negativo (208).

Un **resultado “positivo “**, **P16 (+)**, se asigna a las muestras con tinción con P16 que muestran una tinción de las células de las capas basal y parabasal del epitelio escamoso del cérvix con o sin tinción de las capas superficiales (patrón de **tinción difuso** de células basales y para basales) (Imagen 25).

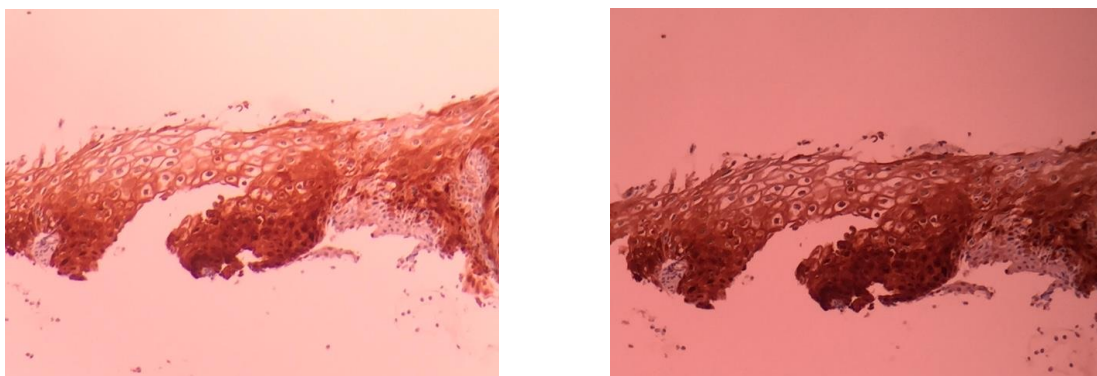


Imagen 25. Patrón de tinción Inmunohistoquímica P16 positivo difuso.
Elaboración propia.

El resultado “**negativo**”, **P16 (-)**, se asigna a las muestras de tinción con P16 que muestran una reacción de tinción negativa (no tinción) en el epitelio escamoso o tinción de células aisladas o en pequeños grupos (patrón de **tinción focal**) (Imagen 26).

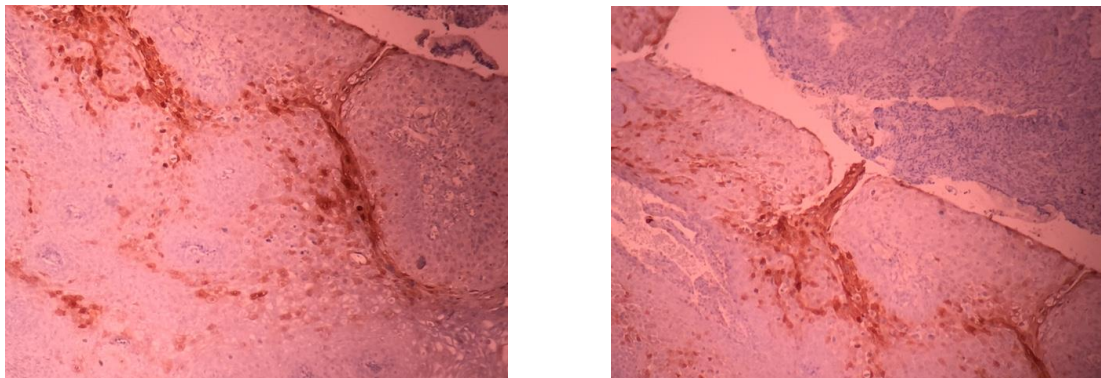


Imagen 26. Patrón de tinción Inmunohistoquímica P16 positivo focal.
Elaboración propia.

Control de tejido positivo (Imagen 27): en cada sesión de tinción se incluyó un **control de tejido positivo externo** para cada grupo de ensayo. Los tejidos utilizados eran seleccionados de muestras de paciente con una tinción positiva conocida para la P16 INK4a. Si los controles positivos no mostraban una tinción positiva adecuada, los resultados de las muestras eran considerados no válidos.

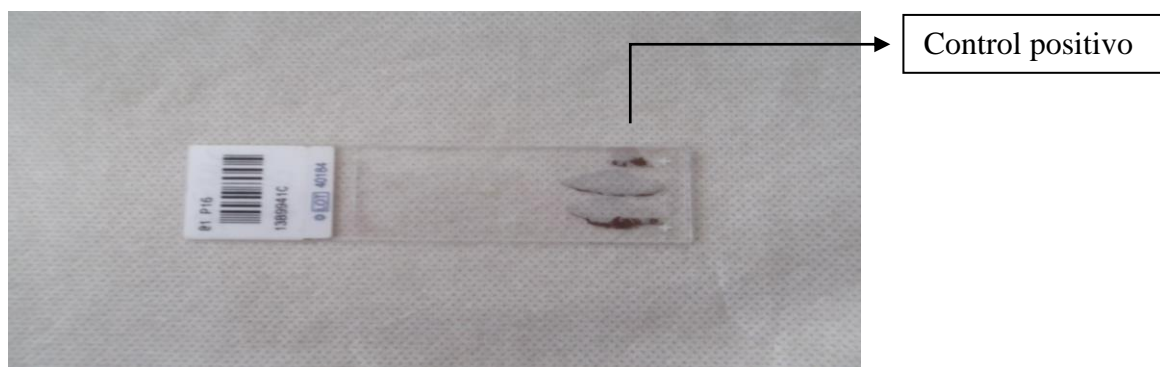


Imagen 27. Muestra a estudiar con control positivo.
Elaboración propia.

Control de tejido negativo: se tomó como referente de **control negativo**, el **tejido sano** con tinción P16 negativa, próximo a la zona de lesión. También es posible utilizar los diferentes tipos de muestras que han resultado ser tinción negativa para P16 INK4a.

ANEXOS

Se realizó una vez al mes una comprobación de casos con el Servicio de Ginecología para evitar pérdidas de datos.

ANEXOS

8.4.- Metodología en la realización de la colposcopia.

La colposcopia, utilizada para la evaluación de pacientes con citología patológica, ha demostrado su importancia como técnica diagnóstica en la prevención secundaria del cáncer de cuello de útero (CCU).

El colposcopio es un instrumento óptico que, mediante una preparación adecuada con ácido acético al 3 %, magnifica las imágenes del cuello uterino, pudiendo identificar, localizar y biopsiar aquellas zonas del epitelio cervical con características colposcópicas anormales.

El colposcopio disponible en nuestro servicio es el modelo Olympus OCS 500. (Colposcopio Modelo OCS-500, WD220 – 350 mm, zoom entre 6 y 20 aumentos, fuente de luz halógena de 150 W, filtro verde. /www.olympuslatinoamerica.com/spanish) (Imagen 28. B, C, D y E).



A



B



C



D



E

Imagen 28. Sala de realización de la colposcopia y colposcopio.
A: Consultas externas de pruebas especiales, donde se realiza la Colposcopia.
B: Vista general del Colposcopio.
C y D: Detalles del cabezal.
E: Detalle del Micro y Macro, utilizados para enfocar la imagen.
Elaboración propia.

La colposcopia nos informa del patrón histológico del epitelio, clasificando las imágenes según presenten alteraciones mínimas (cambios menores o grado 1), graves (cambios mayores o grado 2) o muy graves (sugestivas de carcinoma) de acuerdo con las características definidas en la clasificación internacional de la *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC) (231).

Por tanto es un procedimiento diagnóstico fundamental, pues permite precisar la topografía de las lesiones y obtener un diagnóstico histológico de confirmación.

La *European Federation for Colposcopy* (Federación Europea de Colposcopia, EFC) tiene como uno de sus objetivos primordiales promover un elevado nivel de calidad en colposcopia. Para ello, ha elaborado guías, indicadores y estándares de calidad que apoyen una práctica colposcópica satisfactoria en todos los países miembros. En octubre de 2002 se aceptó un programa consensuado (solicitando el visto bueno de colposcopistas expertos de toda Europa) de 45 competencias esenciales que forman el núcleo del currículo en colposcopia(327).

La Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC) y la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), bajo los auspicios de la EFC, han desarrollado un nuevo programa intensivo de enseñanza en colposcopia en España, basado en

ANEXOS

congresos anuales, cursos presenciales, cursos on-line y atlas digitales, con el objeto de homogeneizar y garantizar la formación continuada en colposcopia, como se está aplicando a nivel europeo. Así, en el año 2006, la AEPCC puso en marcha un programa de control de la calidad y autoevaluación en colposcopia, recogido y aceptado por la EFC, la denominada Acreditación en Colposcopia(328;328), a la que se accede realizando un examen teórico-práctico específico preparado y valorado por un Comité de acreditación. Para acceder al examen es imprescindible estar en posesión del título de especialista en ginecología y obstetricia o ser residente de cuarto año de ginecología y obstetricia, y estar afiliado con un mínimo de 3 meses de antigüedad a la AEPCC. El título de Acreditación en Colposcopia tiene una validez de 5 años, que se puede renovar realizando un nuevo examen, o bien informando de la actividad curricular relacionada con la colposcopia en los últimos 5 años, que será evaluada según el baremo diseñado por el Comité de acreditación. Por ello, el investigador principal (IP) obtuvo la Acreditación en Colposcopia en los años 2010 y 2011, otorgada por la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.

Además, es de suma importancia, la captura y almacenamiento de las imágenes para llevar a cabo un correcto seguimiento de los casos clínicos(232). En nuestro medio hacemos uso de un programa informático de captura de imágenes llamado Endobase.

Las colposcopias se realizaron siguiendo los Indicadores de Calidad en Colposcopia de la European Federation for Colposcopy(233-235).

Las colposcopias en el momento 0 mes fueron realizadas por los 8 miembros del servicio de forma cegada. Las colposcopias de seguimiento las practicó el investigador principal.

8.4.1.- Procedimiento en la realización de la Colposcopia.

Facultativo: El facultativo realizará los siguientes procedimientos:

- Solicitud de la prueba en el programa capturador de imágenes, llamado Endobase.
- Activación de la toma de imágenes.
- Consentimiento informado para la realización de colposcopia – biopsias cervicales. (presente en carpeta: X: Ginecología/consentimientos/biopsia cx).
- Especuloscopia (sin lubricación).

ANEXOS

- Visualización cervical. Limpieza de restos hemáticos y de moco, sin arrastre. (pinza de trabajo y gasa).
- Obtener imagen del cérvix al natural.
- Seguidamente visualización con filtro vascular. Toma de imagen con filtro vascular.
- Aplicación de Ac. Acético 20 cc. al 3%, mediante una gasa, durante 45-60 segundos.
- Visualización cervical y toma de imágenes (captura). La primera captura de imagen la realizamos en el segundo 0'', tras retirar la torunda empapada con ácido acético. La segunda imagen se toma a los 60'' y la tercera a los 120''.
- Test de Schiller: aplicar 10 cc de una solución yodo-yodurada de lugol en una gasa, durante 15 segundos.
- Visualización cervical y toma de imágenes.
- Descripción de los hallazgos colposcópicos.

Existen varias clasificaciones que definen los hallazgos colposcópicos, pero todas ellas tienen en común la utilización de los términos que describen las imágenes elementales: epitelio acetoblanco, punteado mosaico, afinidad al yodo y vasos atípicos.

La *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC) propuso una terminología después del congreso de Roma de 1990 que se modificó en el congreso de Barcelona del año 2002(329). Ésta última clasificación es la que se ha seguido, pues es la más utilizada en todo el mundo. (Ver Apartado: 8.4.2)

A continuación expondremos imágenes colposcópicas ilustrativas de:

- Colposcopia normal (Imagen 29).
- Colposcopia con lesión L-SIL. Generalmente se corresponden con cambios colposcópicos menores (Imagen 30).
- Colposcopia con lesión H-SIL. Frecuentemente se corresponden con cambios colposcópicos mayores (Imagen 31).

ANEXOS

- Colposcopia normal:

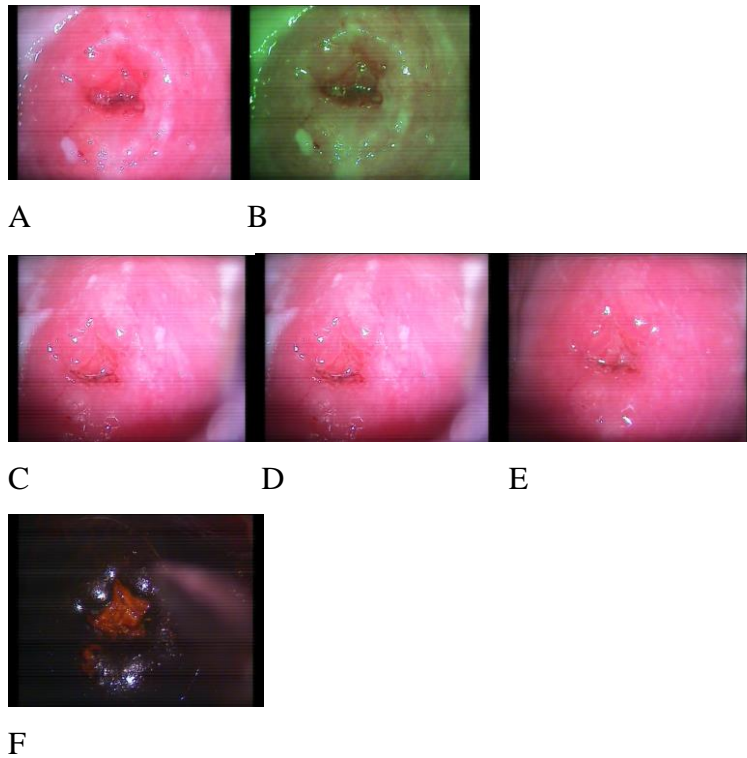


Imagen 29. Colposcopia normal.

A; Imagen obtenida al inicio.

B: Filtro verde, para visualización de formaciones vasculares.

C: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 0''.

D: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 60''.

E: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 120''.

F: Test de Schiller, tras aplicar solución de lugol.

Elaboración propia.

▪ Colposcopia con lesión L-SIL. (Cambios colposcópicos menores).

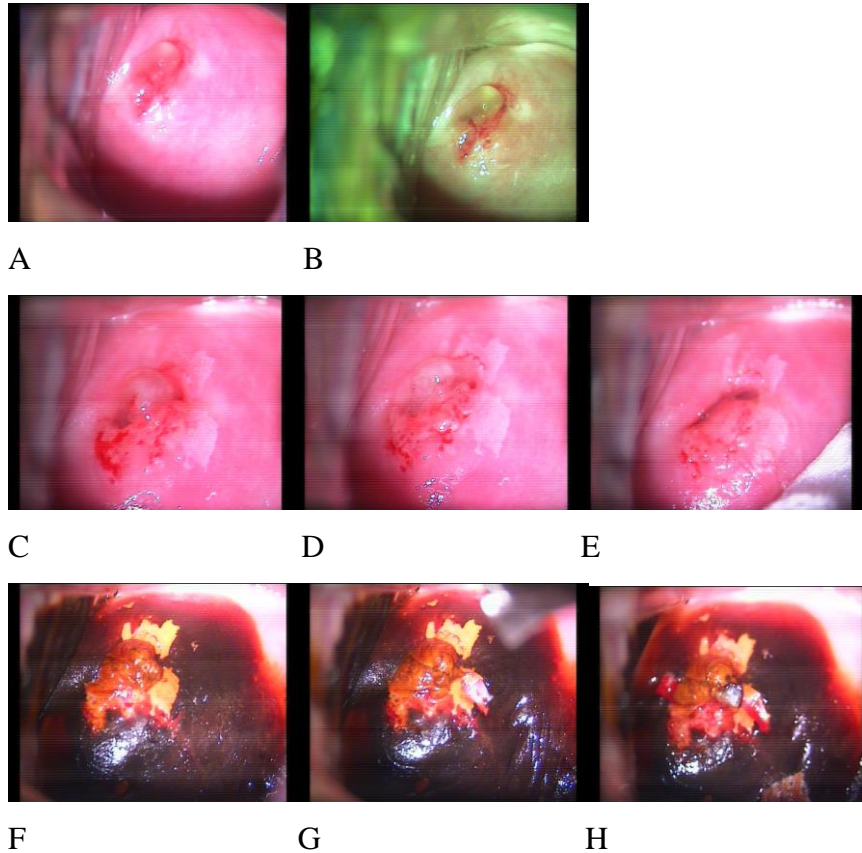


Imagen 30. Cambios colposcópicos menores.

A; Imagen obtenida al inicio.

B: Filtro verde, para visualización de formaciones vasculares.

C: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 0''. Imagen acetoblanca a las 12-1 horas y 3 horas.

D: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 60''. Imagen acetoblanca a las 12-1 horas y 3 horas.

E: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 120''. Imagen acetoblanca a las 12-1 horas y 3 horas.

F: Test de Schiller, tras aplicar solución de lugol. Zonas yodo negativas a las 12-1 horas y a las 3 h.

G y H: Toma de biopsias cervicales a las 3 h.

Elaboración propia.

■ Colposcopia con lesión H-SIL. (Cambios colposcópicos mayores).

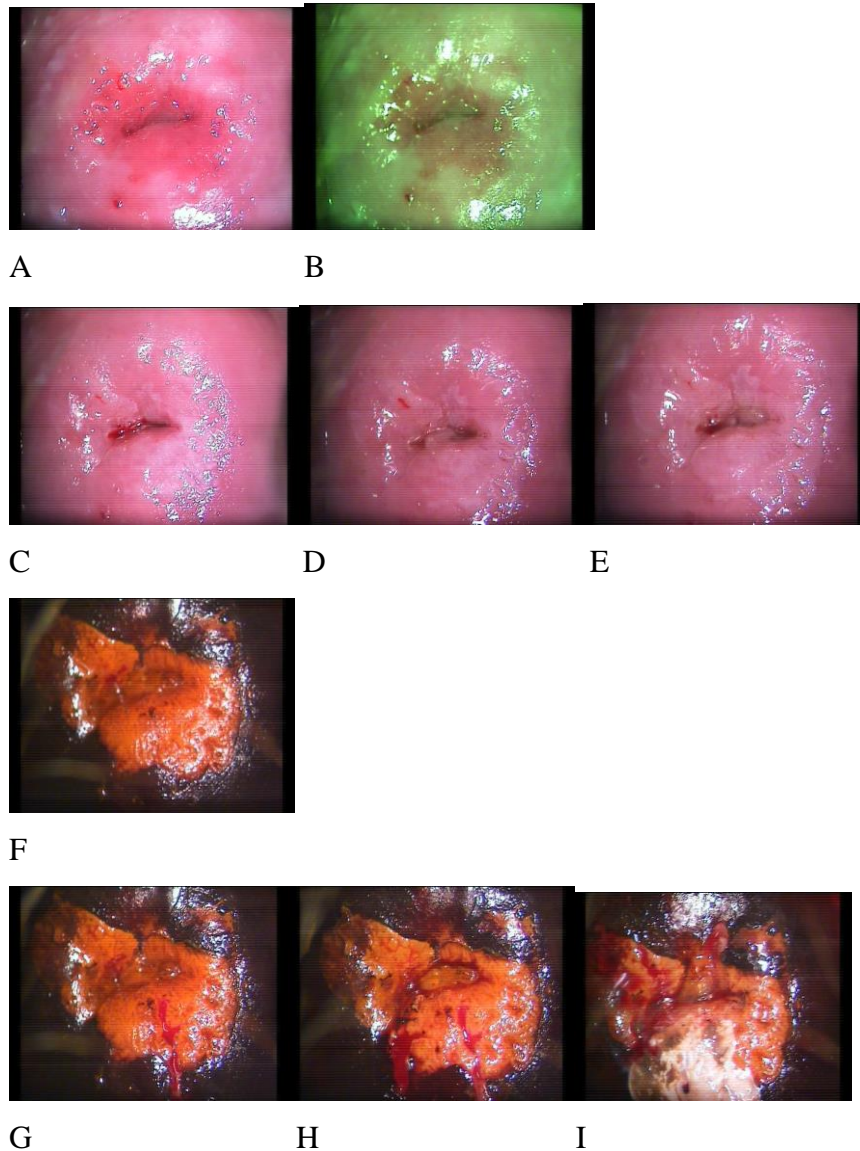


Imagen 31. Cambios colposcópicos mayores.

A; Imagen obtenida al inicio.

B: Filtro verde, para visualización de formaciones vasculares.

C: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 0''. Imagen acetoblanca densa desde las 3-6 horarias y desde las 9 – 11 horas.

D: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 60''. Imagen acetoblanca densa desde las 3-6 horarias y desde las 9 – 11 horas.

E: Tras aplicar Ac. Acético, imagen obtenida en el momento 120''. Imagen acetoblanca densa desde las 3-6 horarias y desde las 9 – 11 horas.

F: Test de Schiller, tras aplicar solución de lugol. Zonas yodo negativas desde las 3-6 horarias y desde las 9-11 horas.

G, H, I: Toma de biopsias cervicales a los 5, 6 y 10-11 h.

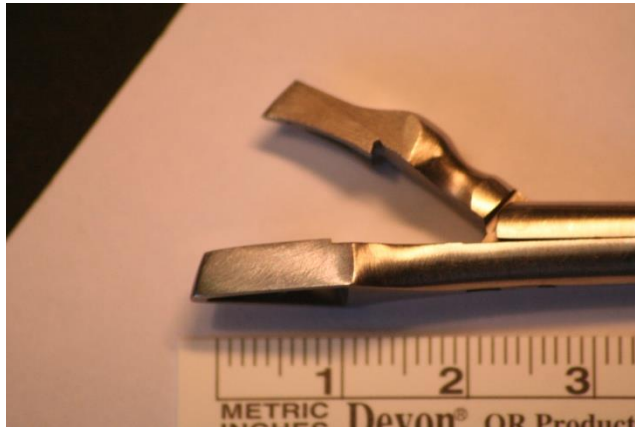
Elaboración propia.

ANEXOS

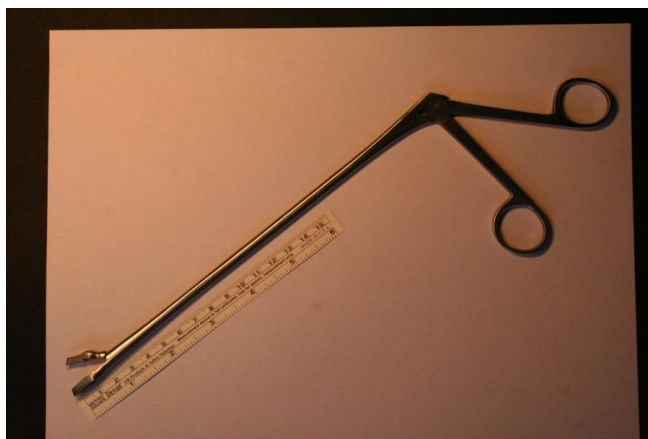
- Pinza modelo *Shumacher* (*Schumacher Biopsy Crocodile Forceps*), para la realización de biopsias cervicales. (Imagen 32 y 33).



A



B



C

Imagen 32. Pinza Schumacher Biopsy Crocodile Forceps.
A, B, C: Pinza Schumacher Biopsy Crocodile Forceps.

Elaboración propia.

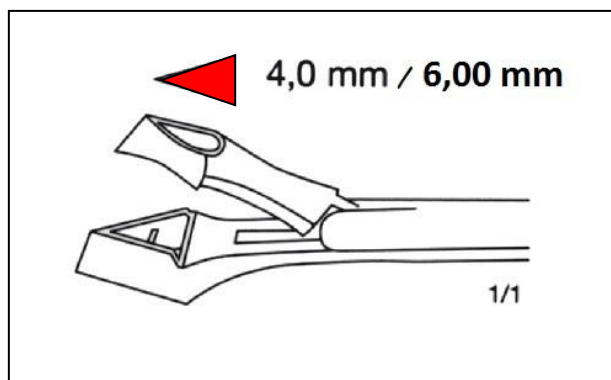


Imagen 33. Detalle de la biopsia cervical, con forma triangular, obtenida con esta pinza.
Elaboración propia.



A



B



C



D

Imagen 34. Modelo del cuello uterino y detalles de ejemplos de biopsias cervicales.

A: Modelo del cuello uterino obtenido con material moldeable.

B: Ejemplo de biopsia cervical practicada en el modelo a las 5 h.

C, D: Detalle de la biopsia obtenida.

Elaboración propia.

ANEXOS



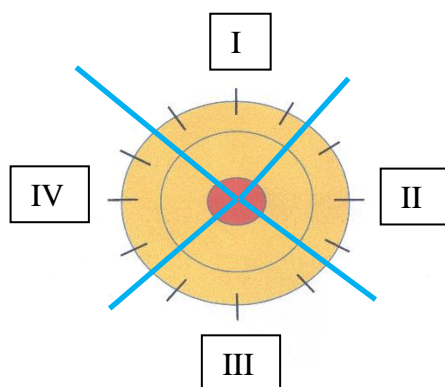
Imagen 35. Detalle del tamaño de biopsia cervical.

En nuestro estudio, las biopsias de cérvix que realizamos tenían un tamaño inferior a 3 mm.
Elaboración propia.

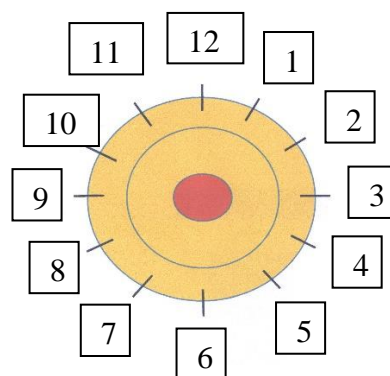
- Registrar la localización de las lesiones y muestras de biopsias tomadas siguiendo el sentido horario.

Dividimos el cuello uterino en cuatro sectores señalados por los puntos horarios de una esfera de reloj (Esquemas 62 y 63).

- Así el **Sector I** quedaría determinado desde las 11 horas hasta la 1 h.
- El **Sector II** abarcaría desde las 2 horarias hasta las 4 h.
- El **Sector III** desde las 5 horas hasta las 7 horas.
- Por último, el **Sector IV** desde las 8 horas hasta las 10 horas.

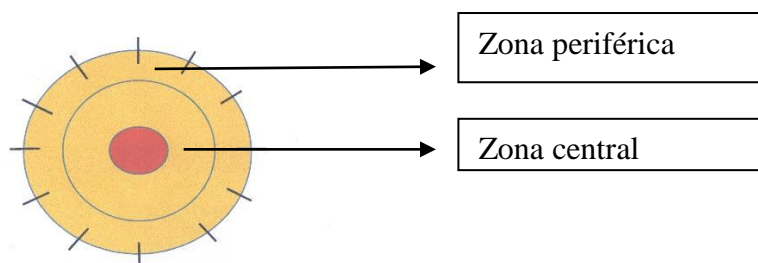


Esquema. 62.
División Sectorial.



Esquema. 63.
División horaria.

Estos cuatro sectores quedarían subdivididos por una corona interna que delimitaría una **zona central** del exocervix y otra corona externa que marcaría una **zona periférica**. Por tanto, la zona central estaría en contacto con la zona de transformación y la zona periférica no (Esquema 64). La zona de transformación es el área comprendida entre el epitelio escamoso original y el epitelio columnar.



Esquema. 64.
División central / periférica.

ANEXOS

- Control de hemostasia: nitrato de plata -barritas vs ac. Tranexámico 10 cc. en gasa.
- Retirar espéculo.
- Cerrar informe de Endobase.
- Solicitud de pruebas en el programa informático y en el petitorio de anatomía patológica.

8.4.2.- Terminología Colposcópica Barcelona 2002(329).

La terminología de Roma de 1990, fue revisada por el Comité de Nomenclatura que se formó durante el X Congreso Mundial, en Buenos Aires, en 1999, liderado por P. Walker. Esta nueva terminología se presentó en el XI Congreso Mundial celebrado en Barcelona, en 2002, y fue publicada por Walker y colaboradores en 2003(329).

Las características principales de esta clasificación son las siguientes:

- a) Presenta un listado general de los hallazgos colposcópicos.
- b) Desaparición del término Leucoplasia. Aparece en el apartado VI misceláneos como queratosis.
- c) Descripción de casi todos los hallazgos colposcópicos posibles, mientras que en la terminología de 1990 sólo los nombraba.
- d) Descripción de la Zona de Transformación, aclarando que dicha zona es una superficie, no una línea, por tanto no debemos confundirla con la unión escamo columnar.
- e) Visibilidad de la zona de transformación, describiéndose tres tipos: 1, 2 y 3. La no visibilidad de toda la zona de transformación constituye la denominada “colposcopia no satisfactoria”, reflejado en el Apartado VI.
- f) Extensión de la zona de transformación a los fornix anterior y posterior de la vagina, de forma triangular, constituyendo la denominada “zona de transformación congénita”. Debe interpretarse como hallazgo fisiológico, presente en el 4-5 % de las mujeres.
- g) Características sugerentes de cambios metaplásicos.
- h) Clasificación de las imágenes anormales. (Apartado II).
- i) Características colposcópicas sugestivas de lesión de bajo (cambios menores) o alto grado (cambios mayores) (Apartados III y IV). Así, la terminología colposcópica se adhiere a la clasificación binaria de los hallazgos anormales, como se presentaron en la nomenclatura citológica Bethesda desde su primera aparición en 1988 y en las siguientes revisiones. Por tanto, se trata que la citología, la colposcopia y la histología denominen a los hallazgos con la misma terminología binaria de lesiones de bajo y alto grado, facilitando así su correlación.

I. Hallazgos colposcópicos normales.

- A. Epitelio escamoso original.
- B. Epitelio columnar.
- C. Zona de transformación.
 - i. Tipo 1: localizada en el ectocervix, totalmente visible (pequeña o grande).
 - ii. Tipo 2: con un componente endocervical, totalmente visible (pequeña o grande).
 - iii. Tipo 3: con un componente endocervical, no totalmente visible (pequeña o grande).

II. Hallazgos colposcópicos anormales.

- A. Epitelio acetoblanco.
- B. Punteado.
- C. Mosaico.
- D. Negatividad al yodo.
- E. Vasos atípicos.

III. Características colposcópicas sugestivas de lesión de bajo grado (CAMBIOS MENORES).

- A. Superficie lisa con borde externo irregular.
- B. Cambio acetoblanco mínimo, que aparece lentamente y desaparece con rapidez.
- C. Yodopositivo débil, a menudo parcialmente moteada.
- D. Punteado fino y mosaico fino y regular.

IV. Características colposcópicas sugestivas de lesión de alto grado (CAMBIOS MAYORES).

- A. Superficie generalmente lisa con borde exterior bien definido.
- B. Cambio acetoblanco denso, que aparece pronto y desaparece lentamente (blanco de ostra).
- C. Color acetoblanco denso en los orificios glandulares.
- D. Negatividad al yodo, de aspecto amarillento en un epitelio intensamente blanco.
- E. Punteado grosero y mosaico extenso e irregular con losetas de diferentes tamaños.
- F. Un cambio acetoblanco denso en un epitelio columnar puede indicar enfermedad glandular.

V. Características colposcópicas sugestivas de cáncer invasivo.

- A. Superficie irregular, erosiva o ulcerada.
- B. Cambio acetoblanco denso.

ANEXOS

- C. Punteado y mosaico extenso e irregular.
- D. Vasos atípicos.

VI. Colposcopia insatisfactoria.

- A. Unión escamo columnar no visible.
- B. Asociación con trauma, inflamación o atrofia que impida valorar.
- C. No se visualiza el cuello.

VI: Hallazgos misceláneos.

- A. Condilomas.
- B. Queratosis.
- C. Erosión.
- D. Inflamación.
- E. Atrofia.
- F. Deciduosis.
- G. Pólipos.

En el año 2011, en el Congreso de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) celebrado en Rio de Janeiro, el Comité de Nomenclatura de la IFCPC presentó la nueva Terminología Colposcópica(231), tras la revisión crítica de las nomenclaturas anteriores y discusión con Sociedades Nacionales de Colposcopia y colposcopistas a nivel individual. Incluye los siguientes cambios:

- a) Aparece una Terminología colposcópica/clínica de la vagina.
- b) Los términos “colposcopia satisfactoria” y “colposcopia insatisfactoria” han sido sustituidos. En el Apartado Evaluación General se recoge el aspecto de visibilidad de la unión escamo columnar y los tipos de zona de transformación: 1, 2 y 3.
- c) Localización de la lesión dentro o fuera de la zona de transformación y ubicación según las agujas del reloj.
- d) Tamaño de la lesión, recogiendo el número de cuadrantes afectados y porcentaje del cuello afectado.
- e) Las zonas yodonegativas pasan a formar parte del apartado hallazgos No específicos.
- f) Se incluye la Normalización de los Tipos de Escisiones cervicales y las dimensiones de la probeta de escisión.
- g) Se han agregado las siguientes definiciones:
 - Señal frontera interior.

ANEXOS

- Signo cresta.
- Zona de transformación congénita.
- Pólipo endo/exocervical.
- Estenosis.
- Anomalía congénita.
- Anomalía post tratamiento.
- Endometriosis.

8.5.- Consentimiento informado para la inclusión en el estudio.

A continuación presentamos el modelo de consentimiento que ofreceremos a las pacientes para que, en caso afirmativo de ser aceptada en la inclusión del estudio, sea firmado.

FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.

**HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS
DEL ALJARAFA**

SERVICIO DE GINECOLOGÍA

B. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN ESTUDIO CLÍNICO:

“Valor predictivo de la sobreexpresión inmunohistoquímica de la proteína p16 (INK4a) como marcador de progresión en neoplasias uterinas cervicales intraepiteliales de bajo grado (L-SIL)”
escamosas

Ha sido Vd. invitado/a a participar en un ensayo clínico que supone INVESTIGACIÓN.

Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para participar en dicho estudio.

La lectura de este documento y su conformidad con el mismo, una vez solventadas por su médico todas las dudas que puedan surgir, permitirá su inclusión en el mismo.

No está Vd. obligado/a a participar en este ensayo, puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a participar en el estudio. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

Díganos si tiene alguna duda o necesita más información. Le atenderemos con mucho gusto.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de XXXXXX en el teléfono: XXX XXX XXX o en el correo electrónico: garcialuiscarlos2@gmail.com.

1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:

EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:

Usted va a participar en un estudio de duración de dos años, donde realizaremos controles con citologías líquidas, colposcopias y biopsias cervicales. Le informaremos detalladamente y le pediremos su autorización antes de cada estudio o prueba, según el caso.

Los controles a los que se les va a someter a usted son los mismos que a cualquier persona que presente lesiones similares a las suyas en el cuello del útero.

La diferencia se marca en el laboratorio, donde determinaremos la presencia o no del virus del papiloma humano (43), responsable y causante de estas alteraciones y en la determinación de la presencia excesiva de la proteína P16. Pues pensamos que cuando ello ocurre las lesiones tienen mayor tendencia a progresar.

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Pretendemos saber qué pacientes que presentan el resultado de P16 positivo, progresarán a lesiones de cuello uterino de mayor entidad o severidad.

ANEXOS

Por tanto, determinar en las pacientes esta proteína, tiene un valor de selección y filtro respecto al manejo y control posterior. Así, conocer este dato a priori nos puede dar información de su probable evolución futura.

CÓMO SE REALIZA:

La determinación de la sobreexpresión de la proteína P16 en muestras histológicas se realizará en el laboratorio de anatomía patológica.

Por otra parte, en el laboratorio de microbiología procesaremos las muestras de citología líquidas para saber de la presencia o no del virus del papiloma humano.

Los pacientes que presenten la lesión L-SIL, entre o no en el estudio, serán controlados de igual manera, con seguimiento citológico, colposcópico y biopsias del cuello uterino, si ello fuese necesario.

QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:

El paciente no percibirá un efecto físico directo, pues son resultados que emanan del laboratorio. Estos resultados nos serán de utilidad como factor pronóstico.

EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:

Hasta la conclusión del estudio no sabremos si la determinación de esta proteína P16 y del virus del papiloma humano son útiles para poder manejar de forma distinta a los pacientes que lo presente o no.

OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:

En su caso:

Continuará realizándose los controles y el seguimiento aprobado en el protocolo del servicio de ginecología con el aval de sociedades científicas a día de hoy.

QUÉ RIESGOS TIENE:

El proyecto de investigación no pone en riesgo adicional la salud del paciente, pues los controles son similares a los realizados en personas que no participan en el estudio.

- **LOS MÁS FRECUENTES:**
 - **LOS MÁS GRAVES:**
 - **LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:**
-

SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:

OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):

ANEXOS

- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- Se me ha informado de que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.

___SI ___NO **Deseo** ser informado/a de mis datos genéticos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.

OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:

- A veces, durante una intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.
- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.
- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS:

(En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.)

HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS DEL ALJARAFE	SERVICIO DE GINECOLOGÍA
---	--------------------------------

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN ESTUDIO CLÍNICO.

(En el caso de INCAPACIDAD DEL/DE LA PACIENTE será necesario el consentimiento del/de la representante legal)
(En el caso del MENOR DE EDAD, cuando se considere que carece de madurez suficiente, el consentimiento lo darán sus representantes legales, aunque el menor

siempre será informado de acuerdo a su grado de entendimiento y, si tiene más de 12 años, se escuchará su opinión. Si el paciente está emancipado o tiene 16 años cumplidos será él quien otorgue el consentimiento. Sin embargo, en caso de actuación de grave riesgo, según el criterio del facultativo, los representantes legales también serán informados y su opinión será tenida en cuenta para la decisión.)

2.1 DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE LEGAL (si es necesario)

APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE	DNI / NIE
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL	DNI / NIE

2.2 PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO

APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

ANEXOS

2.3 CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña _____, manifiesto que estoy conforme con mi participación en el estudio que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

___SI ___NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.

___SI ___NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.

___SI___NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.

___SI___NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.

(NOTA: Márquese con una cruz.)

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE
REPRESENTANTE LEGAL

Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA

Fdo.:

Fdo.:

HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS DEL ALJARAFE	SERVICIO DE GINECOLOGIA
---	--------------------------------

2.4 RECHAZO A PARTICIPAR EN ESTUDIO CLINICO

Yo, D/Dña. _____, no autorizo a mi participación en este estudio clínico. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE
REPRESENTANTE LEGAL

Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA

Fdo.:

Fdo.:

2.5 REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D/Dña. _____, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para participar en este estudio clínico. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.

En _____ a _____ de _____ de _____

EL/LA PACIENTE
REPRESENTANTE LEGAL

Consentimiento/Visto Bueno de EL/LA

Fdo.:

Fdo.:

8.6.- Resolución de la Aprobación del Estudio P16 por el Comité de Ética de la Investigación del Centro H.U. Virgen del Rocío.



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

**INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CENTRO
H.U. VIRGEN DEL ROCIO**

El Comité de Ética de la Investigación de centro H.U. Virgen del Rocío de Sevilla, reunido en la Sesión Ordinaria celebrada el día treinta de noviembre de dos mil once y según consta en el acta 10/11, ha valorado el estudio presentado por el **Dr. D. Luis Carlos García Lancha**

“Valor predictivo de la sobreexpresión inmunohistoquímica de la proteína p16 (INK4a) como marcador de progresión en neoplasias uterinas cervicales escamosas intraepiteliales de bajo grado (L-SIL)”.

Se emite **INFORME FAVORABLE**

En Sevilla, a nueve de diciembre de dos mil once

Fdo.: Roberto Marín Gil
Secretario



Hospital Universitario VIRGEN DEL ROCIO
AVDA. MANUEL SIUROTT S/N - 41013 - SEVILLA

Cód. 010470

ANEXOS

8.7.- Análisis Estadístico.

8.7.1.- Descriptivos Generales.

En primer lugar, presentaremos los descriptivos generales:

Resumen del proceso de casos			
		N	Porcentaje
Casos disponibles en el análisis	Evento ^a	22	19,5%
	Censurado	87	77,0%
	Total	109	96,5%
Casos excluidos	Casos con valores perdidos	0	,0%
	Casos con tiempo negativo	0	,0%
	Casos censurados antes del evento más temprano en un estrato	4	3,5%
	Total	4	3,5%
Total		113	100,0%

Tabla 95. Resumen de los casos disponibles en el análisis estadístico.

Edad.

Edad

N	Válidos	113
	Perdidos	0
Media		34,1327
Desviación típica.		9,67739
Percentiles	25	27,0000
	50	33,0000
	75	41,5000

Tabla 96. Edad Media, Desviación típica y Percentiles 25, 50 y 75 de la población.

Edad (años)	Nº	%
< 25	19	16.81
25-30	27	23.89
>30	67	59.29
Total	113	

Tabla 97. Grupos de Edad del estudio: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Paridad.

Paridad					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	,00	53	46,9	46,9	46,9
	1,00	53	46,9	46,9	93,8
	3,00	7	6,2	6,2	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 98. Grupo de pacientes según Paridad: Nulíparas, 1 parto y > 1 parto.

Anticoncepción.

Método Anticonceptivo					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Barrera	66	58,4	58,4	58,4
	DIU	5	4,4	4,4	62,8
	Hormonal	16	14,2	14,2	77,0
	Otros	26	23,0	23,0	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 99. Grupo de pacientes según Métodos anticonceptivos: Barrera, DIU, Hormonal, Otros.

Citología previa, antes del estudio.

Cito_previa_0_mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ALTO GRADO	23	20,4	20,4	20,4
	BAJO GRADO	90	79,6	79,6	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 100. Grupo de pacientes según Citología previa antes del estudio: Citología Alto grado y Citología Bajo grado.

Presencia viral en el momento 0 mes.

HPV_0_Mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Ausente	14	12,4	12,4	12,4
	VPH - AR y BR	17	15,0	15,0	27,4
	VPH – AR 16/18 y BR	1	,9	,9	28,3
	VPH-AR	34	30,1	30,1	58,4
	VPH-AR 16	12	10,6	10,6	69,0
	VPH-AR 16 y BR	9	8,0	8,0	77,0
	VPH-AR 16/18	1	,9	,9	77,9
	VPH-AR 18	2	1,8	1,8	79,6
	VPH-AR 18 y BR	1	,9	,9	80,5
	VPH-BR	22	19,5	19,5	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 101. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 0 mes: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.

Colposcopias en el momento 0 mes.

Colposcopia_0_mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Cambios Mayores	31	27,4	27,4	27,4
	Cambios menores	80	70,8	70,8	98,2
	Normal	2	1,8	1,8	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 102. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 0 mes.

Cuadrantes afectados 0 mes.

Cuadrantes_afectos_0_mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	,00	2	1,8	1,8	1,8
	1,00	48	42,5	42,5	44,2
	2,00	48	42,5	42,5	86,7
	3,00	7	6,2	6,2	92,9
	4,00	8	7,1	7,1	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 103. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 0 mes.

Resultados de las biopsias cervicales en el momento 0 mes.

Biopsia_0_mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	L-SIL	113	100,0	100,0	100,0

Tabla 104. Resultados de biopsias cervicales en el momento 0 mes.

Sobre expresión de la proteína P16, en el momento 0 mes.

P16_0_Mes_					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	69	61,1	61,1	61,1
	Positivo	44	38,9	38,9	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 105. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 0 mes.

Citología a los 6 meses.

CITO_6_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASC-H	7	6,2	6,4	6,4
	ASCUS	20	17,7	18,2	24,5
	EMBARAZO	1	,9	,9	25,5
	H-SIL	3	2,7	2,7	28,2
	L-SIL	23	20,4	20,9	49,1
	Normal	56	49,6	50,9	100,0
	Total	110	97,3	100,0	
Perdidos	1	3	2,7		
Total		113	100,0		

Tabla 106. Resultados Citológicos a los 6 meses.

Citologías a los 12 meses.

CITO_12_meses_					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASC-H	4	3,5	3,8	3,8
	ASCUS	18	15,9	17,3	21,2
	H-SIL	4	3,5	3,8	25,0
	L-SIL	18	15,9	17,3	42,3
	Normal	60	53,1	57,7	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	1	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 107. Resultados Citológicos a los 12 meses.

Presencia viral a los 12 meses.

		HPV_12_meses			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Ausente	39	34,5	37,5	37,5
	HPV - AR/16 y BR	3	2,7	2,9	40,4
	HPV - AR/16y BR	1	,9	1,0	41,3
	HPV-AR	19	16,8	18,3	59,6
	HPV-AR y BR	11	9,7	10,6	70,2
	HPV-AR/16	5	4,4	4,8	75,0
	HPV-AR/16 y BR	9	8,0	8,7	83,7
	HPV-AR/16/18	2	1,8	1,9	85,6
	HPV-AR/16/18 y BR	1	,9	1,0	86,5
	HPV-AR/18	1	,9	1,0	87,5
	HPV-AR16/18	1	,9	1,0	88,5
	HPV-BR	12	10,6	11,5	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	1	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 108. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 12 meses: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.

Colposcopias en el momento 12 meses.

		Colposcopia_12_meses			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Cambios Mayores	8	7,1	7,7	7,7
	Cambios menores	88	77,9	84,6	92,3
	Normal	8	7,1	7,7	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	1	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 109. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 12 meses.

Nº Cuadrantes afectados 12 meses.

Cuadrantes_afectos_12_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	,00	8	7,1	7,7	7,7
	1,00	28	24,8	26,9	34,6
	2,00	50	44,2	48,1	82,7
	3,00	12	10,6	11,5	94,2
	4,00	6	5,3	5,8	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	Sistema	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 110. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 12 meses.

Resultados de las biopsias cervicales en el momento 12 meses.

Biopsia_12_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	H-SIL	14	12,4	13,5	13,5
	L-SIL	41	36,3	39,4	52,9
	Normal	49	43,4	47,1	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	1	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 111. Resultados de biopsias cervicales en el momento 12 meses.

Sobre expresión de la proteína P16, en el momento 12 meses.

		P16_12_meses_			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	83	73,5	79,8	79,8
	Positivo	21	18,6	20,2	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	1	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 112. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 12 meses.

Citología a los 18 meses.

		CITO_18_meses_			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASCUS	17	15,0	19,8	19,8
	H-SIL	1	,9	1,2	20,9
	L-SIL	14	12,4	16,3	37,2
	Normal	54	47,8	62,8	100,0
	Total	86	76,1	100,0	
Perdidos	1	27	23,9		
Total		113	100,0		

Tabla 113. Resultados Citológicos a los 12 meses.

Citología a los 24 meses.

		CITO_24_meses_			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	ASC-H	1	,9	1,2	1,2
	ASCUS	23	20,4	27,7	28,9
	H-SIL	1	,9	1,2	30,1
	L-SIL	8	7,1	9,6	39,8
	Normal	50	44,2	60,2	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	1	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 114. Resultados Citológicos a los 24 meses.

Presencia viral a los 24 meses.

		HPV_24_meses_			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Ausente	37	32,7	44,6	44,6
	HPV - AR/16/18 y BR	1	,9	1,2	45,8
	HPV-AR	13	11,5	15,7	61,4
	HPV-AR y BR	7	6,2	8,4	69,9
	HPV-AR/16	3	2,7	3,6	73,5
	HPV-AR/16 y BR	2	1,8	2,4	75,9
	HPV-AR/16/18	1	,9	1,2	77,1
	HPV-AR/18 y BR	2	1,8	2,4	79,5
	HPV-BR	17	15,0	20,5	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	1	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 115. Grupo de pacientes según Genotipo viral en el momento 12 meses: Ausente, VPH-AR y BR, VPH-AR 16/18 y BR, VPH- AR, VPH-AR 16, VPH-AR 16 y BR, VPH-AR 16/18, VPH-AR 18, VPH-AR 18 y BR y VPH-BR.

Colposcopias en el momento 24 meses.

Colposcopia_24_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Cambios Mayores	3	2,7	3,6	3,6
	Cambios menores	36	31,9	43,4	47,0
	Normal	44	38,9	53,0	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	1	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 116. Grupo de pacientes según Colposcopia en el momento 24 meses.

Cuadrantes afectados 24 meses.

Cuadrantes_afectos_24_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	,00	44	38,9	53,0	53,0
	1,00	4	3,5	4,8	57,8
	2,00	23	20,4	27,7	85,5
	3,00	10	8,8	12,0	97,6
	4,00	2	1,8	2,4	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	Sistema	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 117. Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 24 meses.
Grupo de pacientes según Cuadrantes cervicales afectados en el momento 24 meses.

Resultados de las biopsias cervicales en el momento 24 meses.

Biopsia_24_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	H-SIL	3	2,7	3,6	3,6
	L-SIL	20	17,7	24,1	27,7
	Normal	60	53,1	72,3	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	1	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 118. Resultados de biopsias cervicales en el momento 24 meses.

Sobre expresión de la proteína P16, en el momento 24 meses.

P16_24_meses					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativo	77	68,1	92,8	92,8
	Positivo	6	5,3	7,2	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	1	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 119. Sobre expresión de la Proteína P16 en el momento 24 meses.

ANEXOS

8.7.2.- Sensibilidad / Especificidad / Valor predictivo positivo /Valor predictivo negativo, de la PRUEBA P16.

8.7.2.1.- P16 AL INICIO (0 MES).

		CARACTERÍSTICA EVALUADA	
		PRESENTE	AUSENTE
		(Prueba de referencia +)	(Prueba de referencia -)
PRUEBA DIAGNÓSTICA +		0	44
PRUEBA DIAGNÓSTICA -		0	69
			113

		IC 95%
Sensibilidad		
Especificidad	61,1%	51,8% a 69,5%
Valor predictivo positivo		
Valor predictivo negativo	100,0%	94,7% a 100,0%
Proporción de falsos positivos	38,9%	30,5% a 48,2%
Proporción de falsos negativos		

Tabla 120. Tabla 0 MES de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, Proporción de Falsos positivos, Proporción de falsos negativos. (Nota: ver Tabla 34).
Realizada por Juan Manuel Praena.

ANEXOS

8.7.2.2.- P16 A LOS 12 MESES.

12/05/2016 09:59

Tabla de Frecuencias

Número de Casos: 104

		Test +		Test -		Total
						Fila
<hr/>						
		15		2		17
EN+		14.42		1.92		16.35
<hr/>						
		6		81		87
EN -		5.77		77.88		83.65
<hr/>						
Total		21		83		104
Columna		20.19		79.81		100.00

Los porcentajes de cada celda se refieren al total de la tabla

Tabla 121. Tabla de frecuencias P16, en el momento 12 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

12/05/2016 10:00

Índices Diagnósticos

Variable Estado de la Naturaleza: EN

Variable Test: Test

Prevalencia = 0.1635

Sensibilidad = 0.8824 con I.C. al 95.00% [0.6356,0.9854]

Especificidad = 0.9310 con I.C. al 95.00% [0.8559,0.9743]

Prob(EN+ | Test+) = 0.0454 si Prev = 0.0037 con I.C. al 95.00% [0.0000,0.1866]

Prob(EN+ | Test-) = 0.0005 si Prev = 0.0037 con I.C. al 95.00% [0.0000,0.0020]

Likelihood Ratio (Test +) = 12.7941 con I.C. al 95.00% [5.7988,28.2283]

Likelihood Ratio (Test -) = 0.1264 con I.C. al 95.00% [0.0343,0.4651]

OR = 101.2500 con I.C. al 95.00% [18.6363,550.0860]

Se asume que la diagonal de concordancia viene dada por la casilla superior izquierda y la casilla inferior derecha. Adicionalmente, los resultados positivos del Estado de la Naturaleza y del Test deben estar situados en la casilla superior izquierda. Si no es así, ordenar los datos para conseguir dicha disposición.

Tabla 122. Tabla de Índices Diagnósticos de la Prueba P16 a los 12 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

12/05/2016 10:01

Chi-Cuadrado de Filas por Columnas

Tamaño Muestral: 104

Estadístico de contraste Chi-Cuadrado: 58.3847

G.L.: 1

p-valor: <0.0001

Nº de celdas con frecuencias absolutas esperadas < 5: 1 de 4, un 25.0000%

Nº de celdas con frecuencias absolutas esperadas < 1: 0 de 4, un 0.0000%

Tabla 123. Tabla de Chi Cuadrado de la Prueba P16 a los 12 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

8.7.2.3.- P16 A LOS 24 MESES.

12/05/2016 10:02

Tabla de Frecuencias

Número de Casos: 83

		Test +		Test -		Total
						Fila

		3		0		3
EN+		3.61		0.00		3.61

		3		77		80
EN -		3.61		92.77		96.39

Total		6		77		83
Columna		7.23		92.77		100.00

Los porcentajes de cada celda se refieren al total de la tabla

Tabla 124. Tabla de frecuencias P16, en el momento 24 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

12/05/2016 10:03

Índices Diagnósticos

Variable Estado de la Naturaleza: EN

Variable Test: Test

Prevalencia = 0.0361

Sensibilidad = 1.0000 con I.C. al 95.00% [0.2924,1.0000]

Especificidad = 0.9625 con I.C. al 95.00% [0.8943,0.9922]

Prob(EN+ | Test+) = 0.0901 si Prev = 0.0037 con I.C. al 95.00% [0.0000,0.3946]

Prob(EN+ | Test-) = 0.0000 si Prev = 0.0037 con I.C. al 95.00% [0.0000,0.0000]

Likelihood Ratio (Test +) = 26.6667 con I.C. al 95.00% [8.7868,80.9296]

Likelihood Ratio (Test -) = 0.0000 con I.C. al 95.00% [0.0000,0.0000]

OR = 1.7976E308 con I.C. al 95.00% [0.0000,1.7976E308]

Se asume que la diagonal de concordancia viene dada por la casilla superior izquierda y la casilla inferior derecha. Adicionalmente, los resultados positivos del Estado de la Naturaleza y del Test deben estar situados en la casilla superior izquierda. Si no es así, ordenar los datos para conseguir dicha disposición.

Tabla 125. Tabla de Índices Diagnósticos de la Prueba P16 a los 24 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

12/05/2016 10:03**Chi-Cuadrado de Filas por Columnas**

Tamaño Muestral:	83
Estadístico de contraste Chi-Cuadrado:	39.9438
G.L.:	1
p-valor:	<0.0001
N° de celdas con frecuencias absolutas esperadas < 5:	2 de 4, un 50.0000%
N° de celdas con frecuencias absolutas esperadas < 1:	1 de 4, un 25.0000%

Tabla 126. Tabla de Chi Cuadrado de la Prueba P16 a los 24 meses.
Realizada por Ana Fernández Palacín.

ANEXOS

8.7.3.- Porcentajes acumulados en citología e histología de Alto y Bajo grado.

8.7.3.1.- Porcentajes acumulados en Citologías de Alto y Bajo grado.

		Cito previa 0 mes	6 mes CITO	12 mes CITO	24 mes CITO
N	Válido	113	109	104	83
	Perdidos	0	4	9	30

Tabla 127. Estadísticos respecto a la variable Citología.

Cito previa 0 mes					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	ALTO GRADO	23	20,4	20,4	20,4
	BAJO GRADO	90	79,6	79,6	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

Tabla 128. Grupo de pacientes según Citología previa antes del estudio: Citología Alto grado y Citología Bajo grado.

6 mes CITO					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	ASC-H	7	6,2	6,4	6,4
	ASCUS	20	17,7	18,3	24,8
	H-SIL	3	2,7	2,8	27,5
	L-SIL	23	20,4	21,1	48,6
	Normal	56	49,6	51,4	100,0
	Total	109	96,5	100,0	
Perdidos	Sistema	4	3,5		
Total		113	100,0		

Tabla 129. Resultados Citológicos a los 6 meses.

12 mes CITO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	ASC-H	4	3,5	3,8	3,8
	ASCUS	18	15,9	17,3	21,2
	H-SIL	4	3,5	3,8	25,0
	L-SIL	18	15,9	17,3	42,3
	Normal	60	53,1	57,7	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	Sistema	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 130. Resultados Citológicos a los 12 meses.

24 mes CITO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	ASC-H	1	,9	1,2	1,2
	ASCUS	23	20,4	27,7	28,9
	H-SIL	1	,9	1,2	30,1
	L-SIL	8	7,1	9,6	39,8
	Normal	50	44,2	60,2	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	Sistema	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 131. Resultados Citológicos a los 24 meses.

ANEXOS

8.7.3.2.- Porcentajes acumulados en Histologías de Alto y Bajo grado.

12 mes Biopsia					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	H-SIL	14	12,4	13,5	13,5
	L-SIL	41	36,3	39,4	52,9
	Normal	49	43,4	47,1	100,0
	Total	104	92,0	100,0	
Perdidos	Sistema	9	8,0		
Total		113	100,0		

Tabla 132. Resultados de biopsias cervicales en el momento 12 meses.

24 mes Biopsia					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	H-SIL	3	2,7	3,6	3,6
	L-SIL	20	17,7	24,1	27,7
	Normal	60	53,1	72,3	100,0
	Total	83	73,5	100,0	
Perdidos	Sistema	30	26,5		
Total		113	100,0		

Tabla 133. Resultados de biopsias cervicales en el momento 24 meses.

8.7.4.- Método de Kaplan – Meier.

Resumen del procesamiento de los casos

Nº total	Nº de eventos	Censurado	
		Nº	Porcentaje
113	22	91	80,5%

Tabla 134. Método de Kaplan – Meier: Resumen del procesamiento de casos.

Tabla de supervivencia

	Meses	Estado	Proporción acumulada que sobrevive en el tiempo		N de eventos acumulados	N de casos restantes
			Estimación	Error estándar		
1	,000	Negativo	.	.	0	111
2	,000	Negativo	.	.	0	110
3	1,000	Negativo	.	.	0	109
4	2,000	Negativo	.	.	0	108
5	6,000	Positivo	,991	,009	1	107
6	7,000	Positivo	,981	,013	2	106
7	7,000	Negativo	.	.	2	105
8	8,000	Positivo	,972	,016	3	104
9	9,000	Positivo	,963	,018	4	103
10	11,000	Positivo	.	.	5	102
11	11,000	Positivo	.	.	6	101
12	11,000	Positivo	.	.	7	100
13	11,000	Positivo	.	.	8	99
14	11,000	Positivo	.	.	9	98
15	11,000	Positivo	.	.	10	97
16	11,000	Positivo	,897	,029	11	96
17	11,000	Negativo	.	.	11	95
18	12,000	Positivo	.	.	12	94
19	12,000	Positivo	.	.	13	93
20	12,000	Positivo	.	.	14	92
21	12,000	Positivo	.	.	15	91
22	12,000	Positivo	.	.	16	90
23	12,000	Positivo	,841	,035	17	89
24	12,000	Negativo	.	.	17	88
25	13,000	Negativo	.	.	17	87
26	14,000	Negativo	.	.	17	86
27	17,000	Negativo	.	.	17	85

ANEXOS

28	18,000	Negativo	.	.	17	84
29	18,000	Negativo	.	.	17	83
30	22,000	Negativo	.	.	17	82
31	22,000	Negativo	.	.	17	81
32	23,000	Positivo	.	.	18	80
33	23,000	Positivo	,820	,037	19	79
34	23,000	Negativo	.	.	19	78
35	23,000	Negativo	.	.	19	77
36	23,000	Negativo	.	.	19	76
37	23,000	Negativo	.	.	19	75
38	23,000	Negativo	.	.	19	74
39	23,000	Negativo	.	.	19	73
40	23,000	Negativo	.	.	19	72
41	23,000	Negativo	.	.	19	71
42	23,000	Negativo	.	.	19	70
43	23,000	Negativo	.	.	19	69
44	23,000	Negativo	.	.	19	68
45	23,000	Negativo	.	.	19	67
46	23,000	Negativo	.	.	19	66
47	23,000	Negativo	.	.	19	65
48	23,000	Negativo	.	.	19	64
49	23,000	Negativo	.	.	19	63
50	23,000	Negativo	.	.	19	62
51	23,000	Negativo	.	.	19	61
52	23,000	Negativo	.	.	19	60
53	23,000	Negativo	.	.	19	59
54	23,000	Negativo	.	.	19	58
55	23,000	Negativo	.	.	19	57
56	23,000	Negativo	.	.	19	56
57	23,000	Negativo	.	.	19	55
58	23,000	Negativo	.	.	19	54
59	23,000	Negativo	.	.	19	53
60	23,000	Negativo	.	.	19	52
61	23,000	Negativo	.	.	19	51
62	23,000	Negativo	.	.	19	50
63	23,000	Negativo	.	.	19	49
64	23,000	Negativo	.	.	19	48
65	24,000	Positivo	,803	,040	20	47
66	24,000	Negativo	.	.	20	46
67	24,000	Negativo	.	.	20	45
68	24,000	Negativo	.	.	20	44
69	24,000	Negativo	.	.	20	43
70	24,000	Negativo	.	.	20	42
71	24,000	Negativo	.	.	20	41
72	24,000	Negativo	.	.	20	40

ANEXOS

73	24,000	Negativo	.	.	20	39
74	24,000	Negativo	.	.	20	38
75	24,000	Negativo	.	.	20	37
76	24,000	Negativo	.	.	20	36
77	24,000	Negativo	.	.	20	35
78	24,000	Negativo	.	.	20	34
79	24,000	Negativo	.	.	20	33
80	24,000	Negativo	.	.	20	32
81	24,000	Negativo	.	.	20	31
82	24,000	Negativo	.	.	20	30
83	24,000	Negativo	.	.	20	29
84	24,000	Negativo	.	.	20	28
85	24,000	Negativo	.	.	20	27
86	24,000	Negativo	.	.	20	26
87	24,000	Negativo	.	.	20	25
88	24,000	Negativo	.	.	20	24
89	24,000	Negativo	.	.	20	23
90	24,000	Negativo	.	.	20	22
91	24,000	Negativo	.	.	20	21
92	24,000	Negativo	.	.	20	20
93	24,000	Negativo	.	.	20	19
94	24,000	Negativo	.	.	20	18
95	24,000	Negativo	.	.	20	17
96	24,000	Negativo	.	.	20	16
97	24,000	Negativo	.	.	20	15
98	24,000	Negativo	.	.	20	14
99	24,000	Negativo	.	.	20	13
100	24,000	Negativo	.	.	20	12
101	24,000	Negativo	.	.	20	11
102	25,000	Negativo	.	.	20	10
103	25,000	Negativo	.	.	20	9
104	25,000	Negativo	.	.	20	8
105	25,000	Negativo	.	.	20	7
106	25,000	Negativo	.	.	20	6
107	25,000	Negativo	.	.	20	5
108	25,000	Negativo	.	.	20	4
109	25,000	Negativo	.	.	20	3
110	25,000	Negativo	.	.	20	2
111	25,000	Negativo	.	.	20	1
112	26,000	Negativo	.	.	20	0

Tabla 135. Tabla de Supervivencia, en meses.

Tabla de supervivencia

	Tiempo	Estado	Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
1	211,000	si	,991	,009	1	108
2	224,000	no	.	.	1	107
3	239,000	si	,982	,013	2	106
4	246,000	si	,972	,016	3	105
5	277,000	si	,963	,018	4	104
6	318,000	si	,954	,020	5	103
7	337,000	si	,945	,022	6	102
8	340,000	si	,935	,024	7	101
9	357,000	si	,926	,025	8	100
10	359,000	si	,917	,027	9	99
11	360,000	si	,907	,028	10	98
12	361,000	no	.	.	10	97
13	363,000	si	,898	,029	11	96
14	364,000	si	,889	,030	12	95
15	368,000	si	,879	,031	13	94
16	371,000	si	,870	,032	14	93
17	373,000	si	,861	,033	15	92
18	375,000	si	,851	,034	16	91
19	376,000	no	.	.	16	90
20	378,000	si	,842	,035	17	89
21	381,000	si	,832	,036	18	88
22	412,000	no	.	.	18	87
23	450,000	no	.	.	18	86
24	538,000	no	.	.	18	85
25	549,000	no	.	.	18	84
26	578,000	no	.	.	18	83
27	693,000	no	.	.	18	82
28	694,000	no	.	.	18	81
29	699,000	no	.	.	18	80
30	705,000	si	,822	,037	19	79
31	707,000	no	.	.	19	78
32	710,000	no	.	.	19	77
33	710,000	no	.	.	19	76
34	711,000	no	.	.	19	75
35	712,000	no	.	.	19	74
36	713,000	no	.	.	19	73
37	713,000	no	.	.	19	72
38	713,000	no	.	.	19	71
39	714,000	no	.	.	19	70

ANEXOS

40	714,000	no	.	.	19	69
41	715,000	no	.	.	19	68
42	721,000	no	.	.	19	67
43	722,000	si		,810 ,038	20	66
44	722,000	no	.	.	20	65
45	723,000	no	.	.	20	64
46	723,000	no	.	.	20	63
47	724,000	no	.	.	20	62
48	726,000	no	.	.	20	61
49	726,000	no	.	.	20	60
50	727,000	no	.	.	20	59
51	727,000	no	.	.	20	58
52	727,000	no	.	.	20	57
53	728,000	no	.	.	20	56
54	728,000	no	.	.	20	55
55	728,000	no	.	.	20	54
56	728,000	no	.	.	20	53
57	728,000	no	.	.	20	52
58	728,000	no	.	.	20	51
59	729,000	no	.	.	20	50
60	729,000	no	.	.	20	49
61	729,000	no	.	.	20	48
62	730,000	no	.	.	20	47
63	730,000	no	.	.	20	46
64	730,000	no	.	.	20	45
65	730,000	no	.	.	20	44
66	731,000	no	.	.	20	43
67	731,000	no	.	.	20	42
68	731,000	no	.	.	20	41
69	731,000	no	.	.	20	40
70	732,000	no	.	.	20	39
71	732,000	no	.	.	20	38
72	733,000	no	.	.	20	37
73	734,000	no	.	.	20	36
74	734,000	no	.	.	20	35
75	735,000	no	.	.	20	34
76	735,000	no	.	.	20	33
77	737,000	no	.	.	20	32
78	741,000	no	.	.	20	31
79	741,000	no	.	.	20	30
80	742,000	no	.	.	20	29
81	742,000	no	.	.	20	28
82	742,000	no	.	.	20	27
83	744,000	no	.	.	20	26

ANEXOS

84	744,000	no	.	.		20	25
85	744,000	no	.	.		20	24
86	744,000	no	.	.		20	23
87	745,000	no	.	.		20	22
88	746,000	no	.	.		20	21
89	748,000	no	.	.		20	20
90	748,000	no	.	.		20	19
91	749,000	no	.	.		20	18
92	749,000	no	.	.		20	17
93	750,000	no	.	.		20	16
94	751,000	no	.	.		20	15
95	755,000	no	.	.		20	14
96	755,000	no	.	.		20	13
97	755,000	no	.	.		20	12
98	759,000	si		,742	,074	21	11
99	761,000	no	.	.		21	10
100	762,000	no	.	.		21	9
101	764,000	no	.	.		21	8
102	766,000	no	.	.		21	7
103	767,000	no	.	.		21	6
104	774,000	no	.	.		21	5
105	775,000	no	.	.		21	4
106	779,000	no	.	.		21	3
107	785,000	no	.	.		21	2
108	790,000	si		,371	,265	22	1
109	792,000	no	.	.		22	0

Tabla 136. Tabla de Supervivencia en días.

Media				Mediana	
Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar
		Límite inferior	Límite superior		
23,440	,551	22,361	24,520	.	.

Tabla 137. Medias y medianas para el Tiempo de supervivencia meses.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia							
Media ^a				Mediana			
Intervalo de confianza al 95%				Intervalo de confianza al 95%			
Límite				Límite			
Estimación	Error típico	Límite inferior	superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior
710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 138. Medias y medianas para el Tiempo de supervivencia en días.

Percentiles			
50,0%		75,0%	
Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 139. Percentiles 50 y 75, para el Tiempo de supervivencia en días.

A continuación estudiamos la Función de supervivencia respecto a las siguientes variables:

a.- Edad.

b.- Paridad.

c.- Método anticonceptivo.

d.- Número de cuadrantes afectados en el momento 0 mes del estudio.

e.- Diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.

f.- Citología previa al estudio.

g.- VPH en el momento 0 mes.

h.- Sobre expresión de la Proteína P16 en el inicio del estudio.

a.- Edad.

Resumen del procesamiento de los casos				
Edad_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
<25	19	2	17	89,5%
25-30	27	4	23	85,2%
>30	67	16	51	76,1%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 140. Resumen del procesamiento de los casos respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Tabla de supervivencia							
		Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento			Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
Edad_	Tiempo	Estado	Estimación	Error típico			
<25	1	246,000	si	,941	,057	1	16
	2	363,000	si	,882	,078	2	15
	3	721,000	no	.	.	2	14
	4	723,000	no	.	.	2	13
	5	726,000	no	.	.	2	12
	6	728,000	no	.	.	2	11
	7	729,000	no	.	.	2	10
	8	731,000	no	.	.	2	9
	9	732,000	no	.	.	2	8
	10	741,000	no	.	.	2	7
	11	744,000	no	.	.	2	6
	12	744,000	no	.	.	2	5
	13	748,000	no	.	.	2	4
	14	750,000	no	.	.	2	3
	15	762,000	no	.	.	2	2
	16	767,000	no	.	.	2	1
	17	792,000	no	.	.	2	0
25-30	1	337,000	si	,962	,038	1	25
	2	364,000	si	,923	,052	2	24
	3	381,000	si	,885	,063	3	23
	4	710,000	no	.	.	3	22
	5	714,000	no	.	.	3	21

ANEXOS

6	727,000	no	.	.		3	20
7	727,000	no	.	.		3	19
8	727,000	no	.	.		3	18
9	730,000	no	.	.		3	17
10	730,000	no	.	.		3	16
11	731,000	no	.	.		3	15
12	731,000	no	.	.		3	14
13	732,000	no	.	.		3	13
14	734,000	no	.	.		3	12
15	734,000	no	.	.		3	11
16	742,000	no	.	.		3	10
17	742,000	no	.	.		3	9
18	742,000	no	.	.		3	8
19	746,000	no	.	.		3	7
20	748,000	no	.	.		3	6
21	749,000	no	.	.		3	5
22	755,000	no	.	.		3	4
23	759,000	si		,663	,197	4	3
24	761,000	no	.	.		4	2
25	766,000	no	.	.		4	1
26	785,000	no	.	.		4	0
<hr/>							
>30	1	211,000	si		,985	,015	64
	2	239,000	si		,969	,021	63
	3	277,000	si		,954	,026	62
	4	318,000	si		,938	,030	61
	5	340,000	si		,923	,033	60
	6	357,000	si		,908	,036	59
	7	359,000	si		,892	,038	58
	8	360,000	si		,877	,041	57
	9	361,000	no	.	.		56
	10	368,000	si		,861	,043	55
	11	371,000	si		,846	,045	54
	12	373,000	si		,830	,047	53
	13	375,000	si		,814	,048	52
	14	376,000	no	.	.		51
	15	378,000	si		,798	,050	50
	16	412,000	no	.	.		49
	17	450,000	no	.	.		48
	18	538,000	no	.	.		47
	19	549,000	no	.	.		46

ANEXOS

20	578,000	no	.	.	13	45
21	693,000	no	.	.	13	44
22	694,000	no	.	.	13	43
23	699,000	no	.	.	13	42
24	705,000	si		,779 ,052	14	41
25	707,000	no	.	.	14	40
26	710,000	no	.	.	14	39
27	711,000	no	.	.	14	38
28	712,000	no	.	.	14	37
29	713,000	no	.	.	14	36
30	713,000	no	.	.	14	35
31	713,000	no	.	.	14	34
32	714,000	no	.	.	14	33
33	715,000	no	.	.	14	32
34	722,000	si		,755 ,056	15	31
35	722,000	no	.	.	15	30
36	723,000	no	.	.	15	29
37	724,000	no	.	.	15	28
38	726,000	no	.	.	15	27
39	728,000	no	.	.	15	26
40	728,000	no	.	.	15	25
41	728,000	no	.	.	15	24
42	728,000	no	.	.	15	23
43	728,000	no	.	.	15	22
44	729,000	no	.	.	15	21
45	729,000	no	.	.	15	20
46	730,000	no	.	.	15	19
47	730,000	no	.	.	15	18
48	731,000	no	.	.	15	17
49	733,000	no	.	.	15	16
50	735,000	no	.	.	15	15
51	735,000	no	.	.	15	14
52	737,000	no	.	.	15	13
53	741,000	no	.	.	15	12
54	744,000	no	.	.	15	11
55	744,000	no	.	.	15	10
56	745,000	no	.	.	15	9

ANEXOS

57	749,000	no	.	.	15	8
58	751,000	no	.	.	15	7
59	755,000	no	.	.	15	6
60	755,000	no	.	.	15	5
61	764,000	no	.	.	15	4
62	774,000	no	.	.	15	3
63	775,000	no	.	.	15	2
64	779,000	no	.	.	15	1
65	790,000	si	.	.	16	0

Tabla 141. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Media ^a					Mediana			
Intervalo de confianza al 95%					Intervalo de confianza al 95%			
Límite					Límite			
Edad _r	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior
<25	734,647	38,404	659,375	809,919
25-30	730,288	26,677	678,002	782,575
>30	694,583	23,685	648,161	741,005	790,000	,000	.	.
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 142. Medias y Medianas (días), respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

Percentiles						
25,0%		50,0%		75,0%		
Edad _	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
25-30					759,000	337,067
>30	790,000	.	790,000	.	790,000	.
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 143. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los tres grupos de edad: < 25 años, 25-30 años y > 30 años.

b.- Paridad.

Resumen del procesamiento de los casos				
Paridad _	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
no	53	7	46	86,8%
si	60	15	45	75,0%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 144. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Paridad: 0 partos, >= 1 parto.

Tabla de supervivencia							
			Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
Paridad	Tiempo	Estado	Estimación	Error típico			
no	1	246,000	si	,980	,020	1	48
	2	359,000	si	,959	,028	2	47
	3	360,000	si	,939	,034	3	46
	4	364,000	si	,918	,039	4	45
	5	450,000	no	.	.	4	44
	6	538,000	no	.	.	4	43
	7	699,000	no	.	.	4	42
	8	705,000	si	,897	,044	5	41
	9	712,000	no	.	.	5	40
	10	713,000	no	.	.	5	39
	11	714,000	no	.	.	5	38
	12	715,000	no	.	.	5	37
	13	721,000	no	.	.	5	36
	14	722,000	si	,872	,049	6	35
	15	723,000	no	.	.	6	34
	16	726,000	no	.	.	6	33
	17	727,000	no	.	.	6	32
	18	727,000	no	.	.	6	31
	19	728,000	no	.	.	6	30
	20	728,000	no	.	.	6	29
	21	729,000	no	.	.	6	28
	22	729,000	no	.	.	6	27
	23	730,000	no	.	.	6	26

ANEXOS

	24	730,000	no	.	.		6	25
	25	731,000	no	.	.		6	24
	26	731,000	no	.	.		6	23
	27	731,000	no	.	.		6	22
	28	732,000	no	.	.		6	21
	29	732,000	no	.	.		6	20
	30	733,000	no	.	.		6	19
	31	734,000	no	.	.		6	18
	32	735,000	no	.	.		6	17
	33	741,000	no	.	.		6	16
	34	741,000	no	.	.		6	15
	35	742,000	no	.	.		6	14
	36	742,000	no	.	.		6	13
	37	742,000	no	.	.		6	12
	38	744,000	no	.	.		6	11
	39	744,000	no	.	.		6	10
	40	746,000	no	.	.		6	9
	41	748,000	no	.	.		6	8
	42	749,000	no	.	.		6	7
	43	749,000	no	.	.		6	6
	44	750,000	no	.	.		6	5
	45	759,000	si		,697	,161	7	4
	46	761,000	no	.	.		7	3
	47	762,000	no	.	.		7	2
	48	785,000	no	.	.		7	1
	49	792,000	no	.	.		7	0
si	1	211,000	si		,983	,017	1	58
	2	239,000	si		,966	,024	2	57
	3	277,000	si		,949	,029	3	56
	4	318,000	si		,932	,033	4	55
	5	337,000	si		,915	,036	5	54
	6	340,000	si		,898	,039	6	53
	7	357,000	si		,881	,042	7	52
	8	361,000	no	.	.		7	51
	9	363,000	si		,864	,045	8	50
	10	368,000	si		,847	,047	9	49
	11	371,000	si		,830	,049	10	48
	12	373,000	si		,812	,051	11	47
	13	375,000	si		,795	,053	12	46

ANEXOS

14	376,000	no	.	.	12	45	
15	378,000	si		,777	,055	13	44
16	381,000	si		,760	,056	14	43
17	412,000	no	.	.	14	42	
18	549,000	no	.	.	14	41	
19	578,000	no	.	.	14	40	
20	693,000	no	.	.	14	39	
21	694,000	no	.	.	14	38	
22	707,000	no	.	.	14	37	
23	710,000	no	.	.	14	36	
24	710,000	no	.	.	14	35	
25	711,000	no	.	.	14	34	
26	713,000	no	.	.	14	33	
27	713,000	no	.	.	14	32	
28	714,000	no	.	.	14	31	
29	722,000	no	.	.	14	30	
30	723,000	no	.	.	14	29	
31	724,000	no	.	.	14	28	
32	726,000	no	.	.	14	27	
33	727,000	no	.	.	14	26	
34	728,000	no	.	.	14	25	
35	728,000	no	.	.	14	24	
36	728,000	no	.	.	14	23	
37	728,000	no	.	.	14	22	
38	729,000	no	.	.	14	21	
39	730,000	no	.	.	14	20	
40	730,000	no	.	.	14	19	
41	731,000	no	.	.	14	18	
42	734,000	no	.	.	14	17	
43	735,000	no	.	.	14	16	
44	737,000	no	.	.	14	15	
45	744,000	no	.	.	14	14	
46	744,000	no	.	.	14	13	
47	745,000	no	.	.	14	12	
48	748,000	no	.	.	14	11	
49	751,000	no	.	.	14	10	
50	755,000	no	.	.	14	9	

ANEXOS

51	755,000	no	.	.		14	8
52	755,000	no	.	.		14	7
53	764,000	no	.	.		14	6
54	766,000	no	.	.		14	5
55	767,000	no	.	.		14	4
56	774,000	no	.	.		14	3
57	775,000	no	.	.		14	2
58	779,000	no	.	.		14	1
59	790,000	si		,000	,000	15	0

Tabla 145. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los grupos de Paridad.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Media					Mediana			
Intervalo de confianza al 95%					Intervalo de confianza al 95%			
Límite					Límite			
Paridad	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior
no	745,071	18,576	708,662	781,481
si	680,714	26,576	628,624	732,804	790,000	,000	.	.
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 146. Medias y Medianas (días), respecto a los grupos de Paridad.

Percentiles						
25,0%		50,0%		75,0%		
Paridad	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
no					759,000	34,133
si	790,000	.	790,000	.	790,000	.
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 147. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los grupos de Paridad.

c.- Método anticonceptivo.**Resumen del procesamiento de los casos**

Método _ Anticonceptivo	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Barrera	66	9	57	86,4%
DIU	5	1	4	80,0%
Hormonal	16	3	13	81,3%
Otros	26	9	17	65,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 148. Resumen del procesamiento de los casos respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.

Tabla de supervivencia

			Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos	Nº de casos que	
Método _ Anticonceptivo	Tiempo	Estado	Estimación	Error típico	acumulados	permanecen	
Barrera	1	277,000	si	,984	,016	1	63
	2	318,000	si	,969	,022	2	62
	3	340,000	si	,953	,026	3	61
	4	359,000	si	,938	,030	4	60
	5	360,000	si	,922	,034	5	59
	6	361,000	no	.	.	5	58
	7	368,000	si	,906	,037	6	57
	8	381,000	si	,890	,039	7	56
	9	538,000	no	.	.	7	55
	10	578,000	no	.	.	7	54
	11	693,000	no	.	.	7	53
	12	699,000	no	.	.	7	52
	13	705,000	si	,873	,042	8	51
	14	707,000	no	.	.	8	50
	15	710,000	no	.	.	8	49
	16	713,000	no	.	.	8	48
	17	714,000	no	.	.	8	47
	18	715,000	no	.	.	8	46
	19	721,000	no	.	.	8	45
	20	722,000	no	.	.	8	44
	21	723,000	no	.	.	8	43

ANEXOS

22	723,000	no	.	.	8	42	
23	724,000	no	.	.	8	41	
24	726,000	no	.	.	8	40	
25	727,000	no	.	.	8	39	
26	728,000	no	.	.	8	38	
27	728,000	no	.	.	8	37	
28	728,000	no	.	.	8	36	
29	728,000	no	.	.	8	35	
30	728,000	no	.	.	8	34	
31	729,000	no	.	.	8	33	
32	729,000	no	.	.	8	32	
33	730,000	no	.	.	8	31	
34	730,000	no	.	.	8	30	
35	730,000	no	.	.	8	29	
36	731,000	no	.	.	8	28	
37	731,000	no	.	.	8	27	
38	731,000	no	.	.	8	26	
39	733,000	no	.	.	8	25	
40	734,000	no	.	.	8	24	
41	735,000	no	.	.	8	23	
42	735,000	no	.	.	8	22	
43	741,000	no	.	.	8	21	
44	741,000	no	.	.	8	20	
45	742,000	no	.	.	8	19	
46	742,000	no	.	.	8	18	
47	742,000	no	.	.	8	17	
48	744,000	no	.	.	8	16	
49	744,000	no	.	.	8	15	
50	746,000	no	.	.	8	14	
51	748,000	no	.	.	8	13	
52	748,000	no	.	.	8	12	
53	749,000	no	.	.	8	11	
54	749,000	no	.	.	8	10	
55	750,000	no	.	.	8	9	
56	751,000	no	.	.	8	8	
57	759,000	si		,764	,108	9	7
58	761,000	no	.	.	9	6	
59	762,000	no	.	.	9	5	
60	764,000	no	.	.	9	4	
61	774,000	no	.	.	9	3	

ANEXOS

	62	775,000	no	.	.	9	2	
	63	785,000	no	.	.	9	1	
	64	792,000	no	.	.	9	0	
DIU	1	337,000	si		,800	,179	1	4
	2	711,000	no	.	.		1	3
	3	728,000	no	.	.		1	2
	4	734,000	no	.	.		1	1
	5	755,000	no	.	.		1	0
Hormonal	1	363,000	si		,929	,069	1	13
	2	364,000	si		,857	,094	2	12
	3	412,000	no	.	.		2	11
	4	694,000	no	.	.		2	10
	5	722,000	si		,771	,117	3	9
	6	727,000	no	.	.		3	8
	7	727,000	no	.	.		3	7
	8	731,000	no	.	.		3	6
	9	732,000	no	.	.		3	5
	10	732,000	no	.	.		3	4
	11	744,000	no	.	.		3	3
	12	755,000	no	.	.		3	2
	13	766,000	no	.	.		3	1
	14	779,000	no	.	.		3	0
Otros	1	211,000	si		,960	,039	1	24
	2	239,000	si		,920	,054	2	23
	3	246,000	si		,880	,065	3	22
	4	357,000	si		,840	,073	4	21
	5	371,000	si		,800	,080	5	20
	6	373,000	si		,760	,085	6	19
	7	375,000	si		,720	,090	7	18
	8	376,000	no	.	.		7	17
	9	378,000	si		,678	,094	8	16
	10	450,000	no	.	.		8	15
	11	549,000	no	.	.		8	14
	12	710,000	no	.	.		8	13
	13	712,000	no	.	.		8	12
	14	713,000	no	.	.		8	11
	15	713,000	no	.	.		8	10
	16	714,000	no	.	.		8	9
	17	726,000	no	.	.		8	8
	18	729,000	no	.	.		8	7

ANEXOS

	19	730,000	no	.	.	8	6
	20	737,000	no	.	.	8	5
	21	744,000	no	.	.	8	4
	22	745,000	no	.	.	8	3
	23	755,000	no	.	.	8	2
	24	767,000	no	.	.	8	1
	25	790,000	si		,000 ,000	9	0

Tabla 149. Tabla de Supervivencia en días, respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Método	Media				Mediana			
	Intervalo de confianza al 95%				Intervalo de confianza al 95%			
	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior
Barrera	737,607	17,787	702,745	772,469
DIU	671,400	74,774	524,843	817,957
Hormonal	714,757	38,605	639,092	790,422
Otros	638,231	47,581	544,971	731,490	790,000	,000	.	.
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 150. Medias y Medianas (días), respecto a los grupos de Métodos Anticonceptivos.

Percentiles						
Método	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
Otros	790,000	.	790,000	.	375,000	5,138
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 151. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a los grupos de Paridad.

d.- Número de cuadrantes afectados en el momento 0 mes del estudio.

Resumen del procesamiento de los casos				
Cuadrantes_afectos_0_mes_recod	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
0/1	50	6	44	88,0%
>1	63	16	47	74,6%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 152. Resumen del procesamiento de los casos respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Tabla de supervivencia							
Cuadrantes_afectos_0_mes_r ecod			Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
0/1	1	211,000	si	,980	,020	1	48
	2	224,000	no	.	.	1	47
	3	246,000	si	,959	,029	2	46
	4	277,000	si	,938	,035	3	45
	5	361,000	no	.	.	3	44
	6	373,000	si	,917	,040	4	43
	7	376,000	no	.	.	4	42
	8	381,000	si	,895	,045	5	41
	9	538,000	no	.	.	5	40
	10	578,000	no	.	.	5	39
	11	693,000	no	.	.	5	38
	12	707,000	no	.	.	5	37
	13	710,000	no	.	.	5	36
	14	710,000	no	.	.	5	35
	15	711,000	no	.	.	5	34
	16	713,000	no	.	.	5	33
	17	713,000	no	.	.	5	32
	18	726,000	no	.	.	5	31
	19	727,000	no	.	.	5	30
	20	727,000	no	.	.	5	29
	21	727,000	no	.	.	5	28
	22	728,000	no	.	.	5	27

ANEXOS

	23	728,000	no	.	.	5	26	
	24	729,000	no	.	.	5	25	
	25	729,000	no	.	.	5	24	
	26	730,000	no	.	.	5	23	
	27	731,000	no	.	.	5	22	
	28	732,000	no	.	.	5	21	
	29	733,000	no	.	.	5	20	
	30	734,000	no	.	.	5	19	
	31	735,000	no	.	.	5	18	
	32	735,000	no	.	.	5	17	
	33	741,000	no	.	.	5	16	
	34	742,000	no	.	.	5	15	
	35	742,000	no	.	.	5	14	
	36	744,000	no	.	.	5	13	
	37	744,000	no	.	.	5	12	
	38	744,000	no	.	.	5	11	
	39	746,000	no	.	.	5	10	
	40	749,000	no	.	.	5	9	
	41	755,000	no	.	.	5	8	
	42	755,000	no	.	.	5	7	
	43	755,000	no	.	.	5	6	
	44	761,000	no	.	.	5	5	
	45	762,000	no	.	.	5	4	
	46	766,000	no	.	.	5	3	
	47	774,000	no	.	.	5	2	
	48	785,000	no	.	.	5	1	
	49	790,000	si		,000	,000	6	0
>1	1	239,000	si		,983	,017	1	59
	2	318,000	si		,967	,023	2	58
	3	337,000	si		,950	,028	3	57
	4	340,000	si		,933	,032	4	56
	5	357,000	si		,917	,036	5	55
	6	359,000	si		,900	,039	6	54
	7	360,000	si		,883	,041	7	53
	8	363,000	si		,867	,044	8	52
	9	364,000	si		,850	,046	9	51
	10	368,000	si		,833	,048	10	50
	11	371,000	si		,817	,050	11	49
	12	375,000	si		,800	,052	12	48

ANEXOS

13	378,000	si		,783	,053	13	47
14	412,000	no	.	.		13	46
15	450,000	no	.	.		13	45
16	549,000	no	.	.		13	44
17	694,000	no	.	.		13	43
18	699,000	no	.	.		13	42
19	705,000	si		,765	,055	14	41
20	712,000	no	.	.		14	40
21	713,000	no	.	.		14	39
22	714,000	no	.	.		14	38
23	714,000	no	.	.		14	37
24	715,000	no	.	.		14	36
25	721,000	no	.	.		14	35
26	722,000	si		,743	,058	15	34
27	722,000	no	.	.		15	33
28	723,000	no	.	.		15	32
29	723,000	no	.	.		15	31
30	724,000	no	.	.		15	30
31	726,000	no	.	.		15	29
32	728,000	no	.	.		15	28
33	728,000	no	.	.		15	27
34	728,000	no	.	.		15	26
35	728,000	no	.	.		15	25
36	729,000	no	.	.		15	24
37	730,000	no	.	.		15	23
38	730,000	no	.	.		15	22
39	730,000	no	.	.		15	21
40	731,000	no	.	.		15	20
41	731,000	no	.	.		15	19
42	731,000	no	.	.		15	18
43	732,000	no	.	.		15	17
44	734,000	no	.	.		15	16
45	737,000	no	.	.		15	15
46	741,000	no	.	.		15	14
47	742,000	no	.	.		15	13
48	744,000	no	.	.		15	12
49	745,000	no	.	.		15	11

ANEXOS

50	748,000	no	.	.	15	10
51	748,000	no	.	.	15	9
52	749,000	no	.	.	15	8
53	750,000	no	.	.	15	7
54	751,000	no	.	.	15	6
55	759,000	si		,619 ,123	16	5
56	764,000	no	.	.	16	4
57	767,000	no	.	.	16	3
58	775,000	no	.	.	16	2
59	779,000	no	.	.	16	1
60	792,000	no	.	.	16	0

Tabla 153. Tabla de Supervivencia en días, respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Cuadrantes_afectos_0_ mes_recod	Media ^a				Mediana			
	Intervalo de confianza al 95%				Intervalo de confianza al 95%			
			Límite				Límite	
	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	superior
0/1	738,339	24,145	691,015	785,662	790,000	,000	.	.
>1	688,646	23,585	642,419	734,873
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 154. Medias y Medianas (días), respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Percentiles							
Cuadrantes_afectos_0_mes_ recod	25,0%		50,0%		75,0%		
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	
0/1	790,000	.	790,000	.	790,000	.	
>1					722,000	122,407	
Global			790,000	22,135	759,000	11,413	

Tabla 155. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto al Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

e.- Diagnóstico colposcópico en el momento 0 mes.

Resumen del procesamiento de los casos				
Colposcopia _0_mes_	Nº total	Nº de eventos	Censurado	
			Nº	Porcentaje
Normal /cambios. menores	82	16	66	80,5%
Cambios. mayores	31	6	25	80,6%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 156. Resumen del procesamiento de los casos respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.

Tabla de supervivencia							
			Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos	Nº de casos que permanecen	
Colposcopia _0_mes_		Tiempo	Estado	Estimación	Error típico	acumulados	
Normal /cambios. menores	1	239,000	si	,988	,012	1	79
	2	246,000	si	,975	,017	2	78
	3	277,000	si	,963	,021	3	77
	4	318,000	si	,950	,024	4	76
	5	340,000	si	,938	,027	5	75
	6	357,000	si	,925	,029	6	74
	7	359,000	si	,913	,032	7	73
	8	360,000	si	,900	,034	8	72
	9	361,000	no	.	.	8	71
	10	364,000	si	,887	,035	9	70
	11	371,000	si	,875	,037	10	69
	12	373,000	si	,862	,039	11	68
	13	375,000	si	,849	,040	12	67
	14	376,000	no	.	.	12	66
	15	381,000	si	,836	,042	13	65
	16	412,000	no	.	.	13	64
	17	450,000	no	.	.	13	63
	18	538,000	no	.	.	13	62
	19	549,000	no	.	.	13	61
	20	578,000	no	.	.	13	60
	21	693,000	no	.	.	13	59
	22	694,000	no	.	.	13	58
	23	705,000	si	,822	,043	14	57

ANEXOS

24	710,000	no	.	.	14	56
25	710,000	no	.	.	14	55
26	711,000	no	.	.	14	54
27	712,000	no	.	.	14	53
28	713,000	no	.	.	14	52
29	713,000	no	.	.	14	51
30	714,000	no	.	.	14	50
31	715,000	no	.	.	14	49
32	723,000	no	.	.	14	48
33	724,000	no	.	.	14	47
34	726,000	no	.	.	14	46
35	726,000	no	.	.	14	45
36	727,000	no	.	.	14	44
37	727,000	no	.	.	14	43
38	728,000	no	.	.	14	42
39	728,000	no	.	.	14	41
40	728,000	no	.	.	14	40
41	728,000	no	.	.	14	39
42	728,000	no	.	.	14	38
43	729,000	no	.	.	14	37
44	729,000	no	.	.	14	36
45	729,000	no	.	.	14	35
46	730,000	no	.	.	14	34
47	730,000	no	.	.	14	33
48	731,000	no	.	.	14	32
49	731,000	no	.	.	14	31
50	732,000	no	.	.	14	30
51	733,000	no	.	.	14	29
52	734,000	no	.	.	14	28
53	734,000	no	.	.	14	27
54	735,000	no	.	.	14	26
55	735,000	no	.	.	14	25
56	737,000	no	.	.	14	24
57	741,000	no	.	.	14	23
58	741,000	no	.	.	14	22
59	742,000	no	.	.	14	21
60	742,000	no	.	.	14	20
61	744,000	no	.	.	14	19
62	744,000	no	.	.	14	18
63	744,000	no	.	.	14	17

ANEXOS

	64	745,000	no	.	.	14	16
	65	746,000	no	.	.	14	15
	66	748,000	no	.	.	14	14
	67	749,000	no	.	.	14	13
	68	755,000	no	.	.	14	12
	69	755,000	no	.	.	14	11
	70	755,000	no	.	.	14	10
	71	759,000	si		,740 ,087	15	9
	72	761,000	no	.	.	15	8
	73	762,000	no	.	.	15	7
	74	764,000	no	.	.	15	6
	75	766,000	no	.	.	15	5
	76	767,000	no	.	.	15	4
	77	774,000	no	.	.	15	3
	78	779,000	no	.	.	15	2
	79	785,000	no	.	.	15	1
	80	790,000	si		,000 ,000	16	0
Cambios. mayores	1	211,000	si		,966 ,034	1	28
	2	224,000	no	.	.	1	27
	3	337,000	si		,930 ,048	2	26
	4	363,000	si		,894 ,058	3	25
	5	368,000	si		,858 ,066	4	24
	6	378,000	si		,822 ,072	5	23
	7	699,000	no	.	.	5	22
	8	707,000	no	.	.	5	21
	9	713,000	no	.	.	5	20
	10	714,000	no	.	.	5	19
	11	721,000	no	.	.	5	18
	12	722,000	si		,777 ,081	6	17
	13	722,000	no	.	.	6	16
	14	723,000	no	.	.	6	15
	15	727,000	no	.	.	6	14
	16	728,000	no	.	.	6	13
	17	730,000	no	.	.	6	12
	18	730,000	no	.	.	6	11
	19	731,000	no	.	.	6	10
	20	731,000	no	.	.	6	9
	21	732,000	no	.	.	6	8

ANEXOS

22	742,000	no	.	.	6	7
23	744,000	no	.	.	6	6
24	748,000	no	.	.	6	5
25	749,000	no	.	.	6	4
26	750,000	no	.	.	6	3
27	751,000	no	.	.	6	2
28	775,000	no	.	.	6	1
29	792,000	no	.	.	6	0

Tabla 157. Tabla de Supervivencia en días, respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
	Media				Mediana			
	Intervalo de confianza				Intervalo de confianza			
	al 95%				al 95%			
Colposcopia 0 mes	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior
Normal /cambios menores	711,905	19,600	673,489	750,321	790,000	,000	.	.
Cambios. mayores	707,188	33,272	641,974	772,402
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 158. Medias y Medianas (días), respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.

Percentiles						
Colposcopia o mes	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
Normal /cambios menores	790,000	.	790,000	.	759,000	9,012
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 159. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto al Diagnóstico Colposcópico en el momento 0 mes.

f.- Citología previa al estudio.

Resumen del procesamiento de los casos				
Cito_previa_0_mes	N° total	N° de eventos	Censurado	
			N°	Porcentaje
ALTO GRADO	23	8	15	65,2%
BAJO GRADO	90	14	76	84,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 160. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Citología Previa al estudio.

Tabla de supervivencia							
		Tiempo	Estado	Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		N° de eventos acumulados	N° de casos que permanecen
				Estimación	Error típico		
Cito_previa_0_mes							
ALTO	1	246,000	si	,955	,044	1	21
GRADO	2	318,000	si	,909	,061	2	20
	3	340,000	si	,864	,073	3	19
	4	368,000	si	,818	,082	4	18
	5	371,000	si	,773	,089	5	17
	6	373,000	si	,727	,095	6	16
	7	378,000	si	,682	,099	7	15
	8	450,000	no	.	.	7	14
	9	710,000	no	.	.	7	13
	10	711,000	no	.	.	7	12
	11	723,000	no	.	.	7	11
	12	727,000	no	.	.	7	10
	13	730,000	no	.	.	7	9
	14	731,000	no	.	.	7	8
	15	731,000	no	.	.	7	7
	16	732,000	no	.	.	7	6
	17	748,000	no	.	.	7	5
	18	749,000	no	.	.	7	4
	19	749,000	no	.	.	7	3
	20	750,000	no	.	.	7	2
	21	767,000	no	.	.	7	1
		22	790,000	si	,000	,000	8
BAJO	1	211,000	si	,989	,011	1	86

ANEXOS

GRADO	2	224,000	no	.	.	1	85	
	3	239,000	si		,977	,016	2	84
	4	277,000	si		,965	,020	3	83
	5	337,000	si		,954	,023	4	82
	6	357,000	si		,942	,025	5	81
	7	359,000	si		,930	,027	6	80
	8	360,000	si		,919	,029	7	79
	9	361,000	no	.	.		7	78
	10	363,000	si		,907	,031	8	77
	11	364,000	si		,895	,033	9	76
	12	375,000	si		,883	,035	10	75
	13	376,000	no	.	.		10	74
	14	381,000	si		,871	,036	11	73
	15	412,000	no	.	.		11	72
	16	538,000	no	.	.		11	71
	17	549,000	no	.	.		11	70
	18	578,000	no	.	.		11	69
	19	693,000	no	.	.		11	68
	20	694,000	no	.	.		11	67
	21	699,000	no	.	.		11	66
	22	705,000	si		,858	,038	12	65
	23	707,000	no	.	.		12	64
	24	710,000	no	.	.		12	63
	25	712,000	no	.	.		12	62
	26	713,000	no	.	.		12	61
	27	713,000	no	.	.		12	60
	28	713,000	no	.	.		12	59
	29	714,000	no	.	.		12	58
	30	714,000	no	.	.		12	57
	31	715,000	no	.	.		12	56
	32	721,000	no	.	.		12	55
	33	722,000	si		,843	,040	13	54
	34	722,000	no	.	.		13	53
	35	723,000	no	.	.		13	52
	36	724,000	no	.	.		13	51
	37	726,000	no	.	.		13	50
	38	726,000	no	.	.		13	49

ANEXOS

39	727,000	no	.	.	13	48
40	727,000	no	.	.	13	47
41	728,000	no	.	.	13	46
42	728,000	no	.	.	13	45
43	728,000	no	.	.	13	44
44	728,000	no	.	.	13	43
45	728,000	no	.	.	13	42
46	728,000	no	.	.	13	41
47	729,000	no	.	.	13	40
48	729,000	no	.	.	13	39
49	729,000	no	.	.	13	38
50	730,000	no	.	.	13	37
51	730,000	no	.	.	13	36
52	730,000	no	.	.	13	35
53	731,000	no	.	.	13	34
54	731,000	no	.	.	13	33
55	732,000	no	.	.	13	32
56	733,000	no	.	.	13	31
57	734,000	no	.	.	13	30
58	734,000	no	.	.	13	29
59	735,000	no	.	.	13	28
60	735,000	no	.	.	13	27
61	737,000	no	.	.	13	26
62	741,000	no	.	.	13	25
63	741,000	no	.	.	13	24
64	742,000	no	.	.	13	23
65	742,000	no	.	.	13	22
66	742,000	no	.	.	13	21
67	744,000	no	.	.	13	20
68	744,000	no	.	.	13	19
69	744,000	no	.	.	13	18
70	744,000	no	.	.	13	17
71	745,000	no	.	.	13	16
72	746,000	no	.	.	13	15
73	748,000	no	.	.	13	14
74	751,000	no	.	.	13	13
75	755,000	no	.	.	13	12

ANEXOS

76	755,000	no	.	.		13	11
77	755,000	no	.	.		13	10
78	759,000	si		,758	,088	14	9
79	761,000	no	.	.		14	8
80	762,000	no	.	.		14	7
81	764,000	no	.	.		14	6
82	766,000	no	.	.		14	5
83	774,000	no	.	.		14	4
84	775,000	no	.	.		14	3
85	779,000	no	.	.		14	2
86	785,000	no	.	.		14	1
87	792,000	no	.	.		14	0

Tabla 161. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la Citología Previa al estudio.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
Cito_previa_0_	Media				Mediana			
	Estimación	Intervalo de confianza al 95%			Estimación	Intervalo de confianza al 95%		
		Error típico	Límite inferior	Límite superior		Error típico	Límite inferior	Límite superior
ALTO GRADO	647,455	47,895	553,581	741,329	790,000	,000	.	.
BAJO GRADO	727,558	16,923	694,389	760,727
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 162. Medias y Medianas (días), respecto a la Citología Previa al estudio.

Percentiles						
Cito_previa_0_mes	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
ALTO GRADO	790,000	.	790,000	.	373,000	6,963
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 163. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la Citología Previa al estudio.

g.- VPH en el momento 0 mes.

Resumen del procesamiento de los casos				
HPV_0_mes_recod	N° total	N° de eventos	Censurado	
			N°	Porcentaje
Ausente/BR	36	3	33	91,7%
AR/AR y BR	51	10	41	80,4%
Otros	26	9	17	65,4%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 164. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.

Tabla de supervivencia							
HPV_0_mes_recod	Tiempo	Estado	Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Ausente/BR	1	360,000	si	,972	,027	1	35
	2	361,000	no	.	.	1	34
	3	376,000	no	.	.	1	33
	4	378,000	si	,943	,039	2	32
	5	412,000	no	.	.	2	31
	6	450,000	no	.	.	2	30
	7	538,000	no	.	.	2	29
	8	549,000	no	.	.	2	28
	9	578,000	no	.	.	2	27
	10	711,000	no	.	.	2	26
	11	712,000	no	.	.	2	25
	12	714,000	no	.	.	2	24
	13	715,000	no	.	.	2	23
	14	722,000	si	,902	,055	3	22
	15	722,000	no	.	.	3	21
	16	723,000	no	.	.	3	20
	17	726,000	no	.	.	3	19
	18	728,000	no	.	.	3	18
	19	728,000	no	.	.	3	17
	20	728,000	no	.	.	3	16
	21	728,000	no	.	.	3	15
	22	730,000	no	.	.	3	14

ANEXOS

	23	730,000	no	.	.	3	13
	24	730,000	no	.	.	3	12
	25	730,000	no	.	.	3	11
	26	731,000	no	.	.	3	10
	27	733,000	no	.	.	3	9
	28	735,000	no	.	.	3	8
	29	741,000	no	.	.	3	7
	30	742,000	no	.	.	3	6
	31	744,000	no	.	.	3	5
	32	744,000	no	.	.	3	4
	33	746,000	no	.	.	3	3
	34	749,000	no	.	.	3	2
	35	767,000	no	.	.	3	1
	36	774,000	no	.	.	3	0
AR/AR y	1	211,000	si		,979	,021	47
BR	2	224,000	no	.	.	1	46
	3	239,000	si		,958	,029	45
	4	246,000	si		,937	,035	44
	5	337,000	si		,915	,041	43
	6	340,000	si		,894	,045	42
	7	357,000	si		,873	,049	41
	8	359,000	si		,851	,052	40
	9	364,000	si		,830	,055	39
	10	371,000	si		,809	,057	38
	11	694,000	no	.	.	9	37
	12	699,000	no	.	.	9	36
	13	707,000	no	.	.	9	35
	14	710,000	no	.	.	9	34
	15	713,000	no	.	.	9	33
	16	713,000	no	.	.	9	32
	17	713,000	no	.	.	9	31
	18	714,000	no	.	.	9	30
	19	721,000	no	.	.	9	29
	20	723,000	no	.	.	9	28
	21	724,000	no	.	.	9	27
	22	726,000	no	.	.	9	26
	23	728,000	no	.	.	9	25
	24	729,000	no	.	.	9	24
	25	729,000	no	.	.	9	23
	26	729,000	no	.	.	9	22
	27	731,000	no	.	.	9	21

ANEXOS

	28	732,000	no	.	.		9	20
	29	734,000	no	.	.		9	19
	30	734,000	no	.	.		9	18
	31	741,000	no	.	.		9	17
	32	742,000	no	.	.		9	16
	33	742,000	no	.	.		9	15
	34	744,000	no	.	.		9	14
	35	744,000	no	.	.		9	13
	36	745,000	no	.	.		9	12
	37	749,000	no	.	.		9	11
	38	751,000	no	.	.		9	10
	39	755,000	no	.	.		9	9
	40	755,000	no	.	.		9	8
	41	761,000	no	.	.		9	7
	42	762,000	no	.	.		9	6
	43	764,000	no	.	.		9	5
	44	775,000	no	.	.		9	4
	45	779,000	no	.	.		9	3
	46	785,000	no	.	.		9	2
	47	790,000	si		,404	,287	10	1
	48	792,000	no	.	.		10	0
Otros	1	277,000	si		,960	,039	1	24
	2	318,000	si		,920	,054	2	23
	3	363,000	si		,880	,065	3	22
	4	368,000	si		,840	,073	4	21
	5	373,000	si		,800	,080	5	20
	6	375,000	si		,760	,085	6	19
	7	381,000	si		,720	,090	7	18
	8	693,000	no	.	.		7	17
	9	705,000	si		,678	,094	8	16
	10	710,000	no	.	.		8	15
	11	727,000	no	.	.		8	14
	12	727,000	no	.	.		8	13
	13	727,000	no	.	.		8	12
	14	728,000	no	.	.		8	11
	15	731,000	no	.	.		8	10
	16	731,000	no	.	.		8	9
	17	732,000	no	.	.		8	8
	18	735,000	no	.	.		8	7
	19	737,000	no	.	.		8	6

ANEXOS

	20	748,000	no	.	.	8	5
	21	748,000	no	.	.	8	4
	22	750,000	no	.	.	8	3
	23	755,000	no	.	.	8	2
	24	759,000	si		,339,244	9	1
	25	766,000	no	.	.	9	0

Tabla 165. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
HPV_0_mes_	Media				Mediana			
	Estimación	Intervalo de confianza al 95%			Estimación	Intervalo de confianza al 95%		
		Error típico	Límite inferior	Límite superior		Error típico	Límite inferior	Límite superior
Ausente/BR	748,702	15,961	717,419	779,985
AR/AR y BR	699,838	27,585	645,771	753,906	790,000	297,761	206,388	1373,612
Otros	644,765	36,983	572,278	717,252	759,000	38,911	682,734	835,266
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 166. Medias y Medianas (días), respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.

Percentiles				
HPV_0_mes_recod	50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
AR/AR y BR	790,000	297,761	790,000	297,761
Otros	759,000	38,911	381,000	243,668
Global	790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 167. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la infección VPH en el momento 0 mes.

h.- Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Resumen del procesamiento de los casos				
P16_0_Mes	N° total	N° de eventos	Censurado	
			N°	Porcentaje
Negativo	69	14	55	79,7%
Positivo	44	8	36	81,8%
Global	113	22	91	80,5%

Tabla 168. Resumen del procesamiento de los casos respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Tabla de supervivencia							
			Proporción acumulada que sobrevive hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
P16_0_Mes	Tiempo	Estado	Estimación	Error típico			
Negativo	1	277,000	si	,985	,015	1	66
	2	318,000	si	,970	,021	2	65
	3	337,000	si	,955	,025	3	64
	4	357,000	si	,940	,029	4	63
	5	359,000	si	,925	,032	5	62
	6	363,000	si	,910	,035	6	61
	7	368,000	si	,896	,037	7	60
	8	371,000	si	,881	,040	8	59
	9	373,000	si	,866	,042	9	58
	10	376,000	no	.	.	9	57
	11	381,000	si	,850	,044	10	56
	12	412,000	no	.	.	10	55
	13	450,000	no	.	.	10	54
	14	538,000	no	.	.	10	53
	15	693,000	no	.	.	10	52
	16	694,000	no	.	.	10	51
	17	699,000	no	.	.	10	50
	18	705,000	si	,833	,046	11	49
	19	707,000	no	.	.	11	48
	20	710,000	no	.	.	11	47
	21	711,000	no	.	.	11	46
	22	712,000	no	.	.	11	45

ANEXOS

23	713,000	no	.	.		11	44
24	714,000	no	.	.		11	43
25	714,000	no	.	.		11	42
26	715,000	no	.	.		11	41
27	721,000	no	.	.		11	40
28	722,000	si		,813	,049	12	39
29	722,000	no	.	.		12	38
30	723,000	no	.	.		12	37
31	726,000	no	.	.		12	36
32	726,000	no	.	.		12	35
33	727,000	no	.	.		12	34
34	727,000	no	.	.		12	33
35	728,000	no	.	.		12	32
36	728,000	no	.	.		12	31
37	729,000	no	.	.		12	30
38	730,000	no	.	.		12	29
39	730,000	no	.	.		12	28
40	730,000	no	.	.		12	27
41	730,000	no	.	.		12	26
42	731,000	no	.	.		12	25
43	733,000	no	.	.		12	24
44	734,000	no	.	.		12	23
45	735,000	no	.	.		12	22
46	735,000	no	.	.		12	21
47	741,000	no	.	.		12	20
48	741,000	no	.	.		12	19
49	742,000	no	.	.		12	18
50	742,000	no	.	.		12	17
51	742,000	no	.	.		12	16
52	744,000	no	.	.		12	15
53	744,000	no	.	.		12	14
54	744,000	no	.	.		12	13
55	748,000	no	.	.		12	12
56	748,000	no	.	.		12	11
57	749,000	no	.	.		12	10
58	750,000	no	.	.		12	9
59	755,000	no	.	.		12	8
60	759,000	si		,711	,104	13	7
61	761,000	no	.	.		13	6
62	762,000	no	.	.		13	5

ANEXOS

	63	766,000	no	.	.	13	4
	64	774,000	no	.	.	13	3
	65	779,000	no	.	.	13	2
	66	785,000	no	.	.	13	1
	67	790,000	si		,000 ,000	14	0
Positivo	1	211,000	si		,976 ,024	1	41
	2	224,000	no	.	.	1	40
	3	239,000	si		,952 ,033	2	39
	4	246,000	si		,927 ,040	3	38
	5	340,000	si		,903 ,046	4	37
	6	360,000	si		,879 ,051	5	36
	7	361,000	no	.	.	5	35
	8	364,000	si		,853 ,055	6	34
	9	375,000	si		,828 ,059	7	33
	10	378,000	si		,803 ,062	8	32
	11	549,000	no	.	.	8	31
	12	578,000	no	.	.	8	30
	13	710,000	no	.	.	8	29
	14	713,000	no	.	.	8	28
	15	713,000	no	.	.	8	27
	16	723,000	no	.	.	8	26
	17	724,000	no	.	.	8	25
	18	727,000	no	.	.	8	24
	19	728,000	no	.	.	8	23
	20	728,000	no	.	.	8	22
	21	728,000	no	.	.	8	21
	22	728,000	no	.	.	8	20
	23	729,000	no	.	.	8	19
	24	729,000	no	.	.	8	18
	25	731,000	no	.	.	8	17
	26	731,000	no	.	.	8	16
	27	731,000	no	.	.	8	15
	28	732,000	no	.	.	8	14
	29	732,000	no	.	.	8	13
	30	734,000	no	.	.	8	12
	31	737,000	no	.	.	8	11
	32	744,000	no	.	.	8	10
	33	745,000	no	.	.	8	9

ANEXOS

34	746,000	no	.	.	8	8
35	749,000	no	.	.	8	7
36	751,000	no	.	.	8	6
37	755,000	no	.	.	8	5
38	755,000	no	.	.	8	4
39	764,000	no	.	.	8	3
40	767,000	no	.	.	8	2
41	775,000	no	.	.	8	1
42	792,000	no	.	.	8	0

Tabla 169. Tabla de Supervivencia en días, respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Medias y medianas del tiempo de supervivencia								
P16_0_Mes	Media				Mediana			
	Intervalo de confianza al 95%				Intervalo de confianza al 95%			
	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior
Negativo	718,269	19,957	679,153	757,386	790,000	,000	.	.
Positivo	698,169	30,043	639,285	757,052
Global	710,616	16,582	678,115	743,117	790,000	22,135	746,616	833,384

Tabla 170. Medias y Medianas (días), respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Percentiles						
P16_0_Mes	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico	Estimación	Error típico
Negativo	790,000	.	790,000	.	759,000	8,732
Global			790,000	22,135	759,000	11,413

Tabla 171. Percentiles 25, 50 y 75 (días), respecto a la Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

ANEXOS

8.7.5.- Modelos de regresión de Cox.

8.7.5.1.- Modelos Univariables.

8.7.5.1.1.- EDAD.

En este primer apartado hemos subdividido los grupos de edad en:

- Pacientes menores de 25 años.
- Pacientes con edad comprendida entre 25 y 30 años.
- Pacientes mayores de 30 años.

Codificaciones de variables categóricas

		Frecuencia	(1)	(2)
Edad (agrupado)	1=<25	19	0	0
	2=25-30	27	1	0
	3=>30	66	0	1

Tabla 172. Codificaciones de la variable categórica Edad (1).

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 173. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – edad.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
180,782	1,307	2	,520	1,377	2	,502

Tabla 174. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – edad.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
1,377	2	,502

Tabla 175. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – edad.

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Edad (agrupado)			1,271	2	,530	
Edad (agrupado)(1)	,226	,866	,068	1	,795	1,253
Edad (agrupado)(2)	,687	,757	,825	1	,364	1,988

Tabla 176. Variables en la ecuación (1) – edad.

Variables en la ecuación

	95,0% CI para Exp(B)	
	Inferior	Superior
Edad (agrupado)		
Edad (agrupado)(1)	,229	6,842
Edad (agrupado)(2)	,451	8,764

Tabla 177. Variables en la ecuación (2) – edad.

Medias de covariables

	Media
Edad (agrupado)(1)	,241
Edad (agrupado)(2)	,593

Tabla 178. Medias de covariables (1) – edad.

ANEXOS

En este segundo apartado subdividimos a las pacientes en estos grupos de edad:

- Pacientes menores de 30 años.
- Pacientes mayores o igual a 30 años.

Codificaciones de variables categóricas

		Frecuencia	(1)
Edad (agrupado)	1=<30	42	0
	2=>=30	70	1

Tabla 179. Codificaciones de la variable categórica Edad (2).

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 180. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (4) – edad.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
181,413	,721	1	,396	,747	1	,387

Tabla 181. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (5) – edad.

ANEXOS

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
,747	1	,387

Tabla 182. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (6) – edad.

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% CI para Exp(B)
							Inferior
Edad (agrupado)	,413	,489	,711	1	,399	1,511	,579

Tabla 183. Variables en la ecuación (3) – edad.

Variables en la ecuación

	95,0% CI para Exp(B)
	Superior
Edad (agrupado)	3,943

Tabla 184. Variables en la ecuación (4) – edad.

Medias de covariables

	Media
Edad (agrupado)	,620

Tabla 185. Medias de covariables (2) – edad.

8.7.5.1.2.- MÉTODOS ANTICONCEPTIVOS.

Codificaciones de variables categóricas					
		Frecuencia	(1)	(2)	(3)
Método Anticonceptivo	1=Barrera	65	0	0	0
	2=DIU	5	1	0	0
	3=Hormonal	16	0	1	0
	4=Otros	26	0	0	1

Tabla 186. Codificaciones de variables categóricas – Métodos anticonceptivos.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 187. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Métodos anticonceptivos.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
177,715	4,969	3	,174	4,444	3	,217

Tabla 188. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Métodos anticonceptivos.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
4,444	3	,217

Tabla 189. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Métodos anticonceptivos.

ANEXOS

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Método Anticonceptivo			4,585	3	,205	
Método Anticonceptivo(1)	,507	1,061	,228	1	,633	1,660
Método Anticonceptivo(2)	,550	,677	,659	1	,417	1,733
Método Anticonceptivo(3)	1,072	,501	4,583	1	,032	2,923

Tabla 190. Variables en la ecuación (1) – Métodos anticonceptivos.

Variables en la ecuación		
	95,0% CI para Exp(B)	
	Inferior	Superior
Método Anticonceptivo		
Método Anticonceptivo(1)	,208	13,278
Método Anticonceptivo(2)	,460	6,534
Método Anticonceptivo(3)	1,095	7,802

Tabla 191. Variables en la ecuación (2) – Métodos anticonceptivos.

Medias de covariables	
	Media
Método Anticonceptivo(1)	,046
Método Anticonceptivo(2)	,139
Método Anticonceptivo(3)	,231

Tabla 192. Medias de covariables – Métodos anticonceptivos.

8.7.5.1.3.- VPH al inicio del estudio.

En este apartado hemos clasificado a las pacientes en tres grupos:

- Pacientes no infectadas por el virus de los papilomas humanos o infectados por virus del papiloma de bajo riesgo.
- Pacientes infectadas por virus de alto riesgo, distintos a los genotipos 16 y 18.
- Pacientes infectadas por virus de alto riesgo, genotipos 16 y 18.

Codificaciones de variables categóricas ^b				
		Frecuencia	(1)	(2)
VPH_0_mes_recod ^a	0=Ausente/BR	36	1	0
	1=AR/AR y BR	51	0	1
	2=Otros	26	0	0

Tabla 193. Codificaciones de variables categóricas (1) – VPH 0 mes.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo

-2 log de la verosimilitud	
	188,890

Tabla 194. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – VPH 0 mes.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo									
-2 log de la verosimilitud	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
182,628	6,403	2	,041	6,262	2	,044	6,262	2	,044

Tabla 195. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – VPH 0 mes.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 199. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – VPH 0 mes.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
178,239	3,415	1	,065	3,920	1	,048

Tabla 200. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (4) – VPH 0 mes.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
3,920	1	,048

Tabla 201. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (5) – VPH 0 mes.

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% CI para Exp(B)
							Inferior
@0mesHPV2	1,101	,626	3,090	1	,079	3,007	,881

Tabla 202. Variables en la ecuación (2) – VPH 0 mes.

Variables en la ecuación	
	95,0% CI para Exp(B)
	Superior
@0mesHPV2	10,264

Tabla 203. Variables en la ecuación (3) – VPH 0 mes.

Medias de covariables	
	Media
@0mesHPV2	,667

Tabla 204. Medias de covariables (2) – VPH 0 mes.

8.7.5.1.4.- HALLAZGOS COLPOSCOPICOS al inicio.

Codificaciones de variables categóricas

		Frecuencia	(1)
Colposcopia0mes2	,00=Normal/menores	81	0
	1,00=Mayores	31	1

Tabla 205. Codificaciones de variables categóricas – Hallazgos colposcópicos al inicio.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 206. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Hallazgos colposcópicos al inicio.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
182,037	,126	1	,723	,123	1	,726

Tabla 207. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Hallazgos colposcópicos al inicio.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
,123	1	,726

Tabla 208. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Hallazgos colposcópicos al inicio.

ANEXOS

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Colposcopia 0 mes	,173	,488	,126	1	,723	1,189

Tabla 209. Variables en la ecuación (1) –Hallazgos colposcópicos al inicio.

Variables en la ecuación		
	95,0% CI para Exp(B)	
	Inferior	Superior
Colposcopia0mes2	,457	3,094

Tabla 210. Variables en la ecuación (2) –Hallazgos colposcópicos al inicio.

Medias de covariables	
	Media
Colposcopia0mes2	,269

Tabla 211. Medias de covariables –Hallazgos colposcópicos al inicio

8.7.5.1.5.- NÚMERO DE CUADRANTES AFECTOS en el momento 0 mes.

Codificaciones de variables categóricas			
		Frecuencia	(1)
Cuadrantes_afectos_0_mes_	0=0/1	50	0
	1=>1	63	1

Tabla 212. Codificaciones de variables categóricas-Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo									
-2 log de la	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
verosimilitud	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
185,652	3,090	1	,079	3,238	1	,072	3,238	1	,072

Tabla 213. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Variables en la ecuación									
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)		
							Inferior	Superior	
Cuadrantes_afectos_0_mes_recod	,819	,479	2,923	1	,087	2,268	,887	5,799	

Tabla 214. Variables en la ecuación – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

Medias de las covariables	
	Media
Cuadrantes_afectos_0_mes_recod	,550

Tabla 215. Medias de covariables – Número de Cuadrantes afectados en el momento 0 mes.

8.7.5.1.6.- CITOLOGÍA al inicio del estudio.

Codificaciones de variables categóricas			
		Frecuencia	(1)
Cito_previa_0_mes	1=ALTO GRADO	23	1
	2=BAJO GRADO	90	0

Tabla 216. Codificaciones de variables categóricas-Citología al inicio del estudio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo	
-2 log de la verosimilitud	
	188,890

Tabla 217. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Citología al inicio del estudio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo									
-2 log de la	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
verosimilitud	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
185,824	3,551	1	,060	3,065	1	,080	3,065	1	,080

Tabla 218. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Citología al inicio del estudio.

Variables en la ecuación								
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,824	,449	3,371	1	,066	2,279	,946	5,490

Tabla 219. Variables en la ecuación – Citología al inicio del estudio.

Medias de las covariables	
Media	
Cito_previa_0_mes	,202

Tabla 220. Medias de covariables – Citología al inicio del estudio.

8.7.5.1.7.- SOBRE EXPRESIÓN de la Proteína P16, al inicio del estudio.

Codificaciones de variables categóricas ^b			
		Frecuencia	(1)
P16_0_Mes ^a	1=Negativo	69	0
	2=Positivo	44	1

Tabla 221. Codificaciones de variables categóricas-Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo

-2 log de la verosimilitud
188,890

Tabla 222. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo									
-2 log de la	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
verosimilitud	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
188,880	,010	1	,921	,010	1	,921	,010	1	,921

Tabla 223. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Variables en la ecuación								
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
P16_0_Mes	-,044	,444	,010	1	,921	,957	,401	2,285

Tabla 224. Variables en la ecuación – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

Medias de las covariables	
Media	
P16_0_Mes	,385

Tabla 225. Medias de covariables – Sobre expresión de la Proteína P16 al inicio del estudio.

ANEXOS

8.7.5.2.- Modelos Multivariados.

8.7.5.2.1.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/EDAD.

Codificaciones de variables categóricas		
		Frecuencia
Cito previa 0 mes	1=ALTO GRADO	22
	2=BAJO GRADO	90
0 Mes P16	1=Negativo	68
	2=Positivo	44
@0mesHPV2	0=Negativo (Ausente y BR)	36
	1=Positivo	76
Edad (agrupado)	1=<30	42
	2=>=30	70

Tabla 226. Codificaciones de variables categóricas-Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Logaritmo de la verosimilitud -2
182,160

Tabla 227. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a paso anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
175,423	6,617	4	,158	6,737	4	,150

Tabla 228. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

Cambio respecto a bloque anterior		
Chi-cuadrado	gl	Sig.
6,737	4	,150

Tabla 229. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (3) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% CI para Exp(B)
							Inferior
0 Mes P16	-,080	,468	,029	1	,864	,923	,369
Edad (agrupado)	,637	,498	1,638	1	,201	1,891	,713
Cito previa 0 mes	,543	,491	1,220	1	,269	1,721	,657
@0mesHPV2	1,201	,641	3,516	1	,061	3,324	,947

Tabla 230. Variables en la ecuación (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

Variables en la ecuación

	95,0% CI para Exp(B)
	Superior
0 Mes P16	2,308
Edad (agrupado)	5,016
Cito previa 0 mes	4,509
@0mesHPV2	11,664

Tabla 231. Variables en la ecuación (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

Medias de covariables

	Media
0 Mes P16	,389
Edad (agrupado)	,620
Cito previa 0 mes	,194
@0mesHPV2	,667

Tabla 232. Medias de covariables – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/VPH al inicio/Edad.

8.7.5.2.2.- CITOLOGÍA previa al inicio/P16 al inicio/GENOTIPO VPH al inicio/EDAD/Nº de CUADRANTES AFECTOS al inicio.

Codificaciones de variables categóricas ^f				
		Frecuencia	(1)	(2)
Cito_previa_0_mes	1=ALTO GRADO	23	1	
	2=BAJO GRADO	90	0	
P16_0_Mes	1=Negativo	69	0	
	2=Positivo	44	1	
HPV_0_mes_	0=Ausente/BR	36	0	0
	1=AR/AR y BR	51	1	0
	2=Otros	26	0	1
Cuadrantes_afectos_0_mes_	0=0/1	50	0	
	1=>1	63	1	
Edad	1=<=30	46	0	
	2=>30	67	1	

Tabla 233. Codificaciones de variables categóricas- Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo

-2 log de la verosimilitud	
	188,890

Tabla 234. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (1) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.

Pruebas ómnibus sobre los coeficientes del modelo

-2 log de la verosimilitud	Global (puntuación)			Cambio desde el paso anterior			Cambio desde el bloque anterior		
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
170,611	18,228	6	,006	18,279	6	,006	18,279	6	,006

Tabla 235. Prueba ómnibus de coeficientes de modelo (2) – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.

Variables en la ecuación								
	B	ET	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% IC para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Cito_previa_0_mes	,773	,479	2,605	1	,107	2,167	,847	5,544
P16_0_Mes	-,254	,467	,297	1	,586	,775	,311	1,936
HPV_0_mes_			7,473	2	,024			
Nombre de variable	1,069	,677	2,496	1	,114	2,912	,773	10,969
HPV_0_mes_(1)								
Nombre de variable	1,833	,686	7,133	1	,008	6,252	1,629	24,001
HPV_0_mes_(2)								
Cuadrantes_afectos_0_mes_	,972	,509	3,654	1	,056	2,644	,976	7,163
Edad_	1,222	,504	5,882	1	,015	3,394	1,264	9,112

Tabla 236. Variables en la ecuación – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.

Medias de las covariables	
	Media
Cito_previa_0_mes	,202
P16_0_Mes	,385
HPV_0_mes_(1)	,440
HPV_0_mes_(2)	,229
Cuadrantes_afectos_0_mes_	,550
Edad_	,596

Tabla 237. Medias de covariables – Modelo Multivariable-Citología previa al inicio/P16 al inicio/Genotipo VPH al inicio/Edad/Número de cuadrantes afectados al inicio.

BIBLIOGRAFÍA

9.- BIBLIOGRAFÍA

Reference List

- (1) Vilaplana E, Puig Tintore LM, Cortes J. Encuesta Española sobre resultados citológicos anormales. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia; 2006. Report No.: 20.
- (2) Cortés J, Vilaplana E, Miranda E, Ferret G, Andia D, Ramón y Cajal JM, et al. Vacuna frente al virus del papiloma humano y cribado de cáncer de cuello de útero. *Prog Obstet Ginecol* 2009;52(6):361-9.
- (3) Torne A, del PM, Cusidó M. Carga de enfermedad cervical asociada al Virus del Papiloma Humano (VPH) en España. *Prog Obstet Ginecol* 2017;57:3-6.
- (4) Instituto Nacional de Estadística 2. Cifras de población a 1 de enero de 2013a. Resultados nacionales. Población residente por fecha, sexo y edad. 2013.
- (5) de SS, Cortes X, Mendez C, Puig-Tintore L, Torne A, Roura E, et al. Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population Results from the AFRODITA survey. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008 Oct;140(2):234-40.
- (6) Puig-Tintore LM, Castellsague X, Torne A, de SS, Cortes J, Roura E, et al. Coverage and factors associated with cervical cancer screening: results from the AFRODITA study: a population-based survey in Spain. *J Low Genit Tract Dis* 2008 Apr;12(2):82-9.
- (7) Instituto Nacional de Estadística 2. Encuesta Nacional de Salud 2011-2012. Ficheros de microdatos. 2015.
- (8) Castellsague X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: the CLEOPATRE study. *J Med Virol* 2012 Jun;84(6):947-56.
- (9) Rodriguez-Sales V, Roura E, Ibanez R, Peris M, Bosch FX, de SS. Coverage of Cervical Cancer Screening in Catalonia for the Period 2008-2011 among Immigrants and Spanish-Born Women. *Front Oncol* 2013;3:297.
- (10) Rodriguez-Sales V, Roura E, Ibanez R, Peris M, Bosch FX, Coma EE, et al. [Coverage of cervical cancer screening in Catalonia, Spain (2008-2011)]. *Gac Sanit* 2014 Jan;28(1):7-13.
- (11) Castellsague X, Remy V, Puig-Tintore LM, de la Cuesta RS, Gonzalez-Rojas N, Cohet C. Epidemiology and costs of screening and management of precancerous lesions of the cervix in Spain. *J Low Genit Tract Dis* 2009 Jan;13(1):38-45.
- (12) Izquierdo A, Marcos-Gragera R, Vilardell R, Buxó M, Fuentes J. El cáncer a Girona 2005-2006. *Can Gir* 2005-6 2012;3.
- (13) Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013 Apr;49(6):1374-403.
- (14) Cervical Screening Programme, England, 2013-14. 2014.
- (15) Eversole GM, Moriarty AT, Schwartz MR, Clayton AC, Souers R, Fatheree LA, et al. Practices of participants in the college of american pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology, 2006. *Arch Pathol Lab Med* 2010 Mar;134(3):331-5.
- (16) Walker JL, Wang SS, Schiffman M, Solomon D. Predicting absolute risk of CIN3 during post-colposcopic follow-up: results from the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS). *Am J Obstet Gynecol* 2006 Aug;195(2):341-8.

BIBLIOGRAFÍA

- (17) Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998 Feb 12;338(7):423-8.
- (18) Ho GY, Studentsov YY, Bierman R, Burk RD. Natural history of human papillomavirus type 16 virus-like particle antibodies in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004 Jan;13(1):110-6.
- (19) Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC, et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2003 Sep 3;95(17):1336-43.
- (20) Schneider V. CIN prognostication: will molecular techniques do the trick? *Acta Cytol* 2003 Mar;47(2):115-6.
- (21) Downey GP, Bavin PJ, Deery AR, Crow J, Griffiths PD, Emery VC, et al. Relation between human papillomavirus type 16 and potential for progression of minor-grade cervical disease. *Lancet* 1994 Aug 13;344(8920):432-5.
- (22) Hording U, Junge J, Rygaard C, Lundvall F. Management of low-grade CIN: follow-up or treatment? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995 Sep;62(1):49-52.
- (23) Woodman CB, Rollason T, Ellis J, Tierney R, Wilson S, Young L. Human papillomavirus infection and risk of progression of epithelial abnormalities of the cervix. *Br J Cancer* 1996 Feb;73(4):553-6.
- (24) Cortecchia S, Galanti G, Sgadari C, Costa S, De LM, Caprara L, et al. Follow-up study of patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 overexpressing p16Ink4a. *Int J Gynecol Cancer* 2013 Nov;23(9):1663-9.
- (25) del PM, Garcia S, Fuste V, Alonso I, Fuste P, Torne A, et al. Value of p16(INK4a) as a marker of progression/regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. *Am J Obstet Gynecol* 2009 Nov;201(5):488-7.
- (26) Cox JT, Schiffman M, Solomon D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 2003 Jun;188(6):1406-12.
- (27) Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993 Apr;12(2):186-92.
- (28) Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007 Sep 8;370(9590):890-907.
- (29) Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol* 2007 Oct;197(4):340-5.
- (30) Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001 Feb 21;93(4):293-9.
- (31) Darragh TM, Colgan TJ, Thomas CJ, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Int J Gynecol Pathol* 2013 Jan;32(1):76-115.
- (32) Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007 Feb 28;297(8):813-9.
- (33) Chan SY, Delius H, Halpern AL, Bernard HU. Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types: uniting typing, phylogeny, and taxonomy. *J Virol* 1995 May;69(5):3074-83.
- (34) Pfister H, Gissmann L. Heterogeneity of human papilloma viruses. *Bull Cancer* 1978;65(2):165-7.

BIBLIOGRAFÍA

- (35) Di BP, Grasso F, Mochi S, Accardi L, Dona MG, Branca M, et al. Serum antibody response to Human papillomavirus (HPV) infections detected by a novel ELISA technique based on denatured recombinant HPV16 L1, L2, E4, E6 and E7 proteins. *Infect Agent Cancer* 2006;1:6.
 - (36) Pérez C. Estructura, función de los genes virales y terminología empleada. In: Alba A, Bosch FX, Castellsague X, Junquera M, Muñoz N, Pérez C, et al., editors. *La infección por HPV*. Madrid: BYPASS Ediciones; 2007. p. 11-8.
 - (37) Feng Q, Kiviat NB. Manual of clinical microbiology. In: Murray PR, Baran EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC, editors. *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p. 1512-23.
 - (38) Galloway D.A. Biology of genital human papillomaviruses. In: McGraw Hill NY, editor. *Sexually Transmitted Diseases*. New York: 1999. p. 335-46.
 - (39) Alemany L, Cubilla A, Halc G, Kasamatsu E, Quiros B, Masferrer E, et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. *Eur Urol* 2016 May;69(5):953-61.
 - (40) Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El GF, et al. A review of human carcinogens-- Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009 Apr;10(4):321-2.
 - (41) Joura EA, Ault KA, Bosch FX, Brown D, Cuzick J, Ferris D, et al. Attribution of 12 high-risk human papillomavirus genotypes to infection and cervical disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014 Oct;23(10):1997-2008.
 - (42) Munoz N, Bosch FX, de SS, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003 Feb 6;348(6):518-27.
 - (43) Alba A. Oncogenesis e inmunología de la infección por el VPH. Biología del VPH. Infección latente. Infección productiva. Curso de formación y cáncer del tracto genital inferior (cuello, vagina y vulva). AEPCC,SEGO,SEAFORMEC; 2008. p. 23.
 - (44) zur HH, Meinhof W, Scheiber W, Bornkamm GW. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. *Int J Cancer* 1974 May 15;13(5):650-6.
 - (45) zur HH. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res* 1976 Feb;36(2 pt 2):794.
 - (46) zur HH. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol* 1977;78:1-30.
 - (47) Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol* 1976 Nov;20(6):505-9.
 - (48) Meisels A, Roy M, Fortier M, Morin C, Casas-Cordero M, Shah KV, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: the atypical condyloma. *Acta Cytol* 1981 Jan;25(1):7-16.
 - (49) zur HH. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat.Rev.Cancer* 2[5], 342-350. 2002.
- Ref Type: Motion Picture
- (50) Galloway DA, McDougall JK. The disruption of cell cycle checkpoints by papillomavirus oncoproteins contributes to anogenital neoplasia. *Semin Cancer Biol* 1996 Dec;7(6):309-15.
 - (51) Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999 Sep;189(1):12-9.
 - (52) Evans MF, Cooper K. Human papillomavirus integration: detection by in situ hybridization and potential clinical application. *J Pathol* 2004 Jan;202(1):1-4.

BIBLIOGRAFÍA

- (53) zur HH. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. 55-78. 1996. Biochem. Biophys.
Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (54) Bosch FX, Lorincz AT, Muñoz N. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;(55):244-65.
- (55) Hariri J, Oster A. The negative predictive value of p16INK4a to assess the outcome of cervical intraepithelial neoplasia 1 in the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol* 2007 Jul;26(3):223-8.
- (56) Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu* 1973;8:301-28.
- (57) Schiff M, Miller J, Masuk M, van Asselt KL, Altobelli KK, Wheeler CM, et al. Contraceptive and reproductive risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in American Indian women. *Int J Epidemiol* 2000 Dec;29(6):983-90.
- (58) Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002 Nov;89(2):191-9.
- (59) Chaiwongkot A, Pientong C, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, Thinkhamrop J, Yuenyao P, et al. Evaluation of primers and PCR performance on HPV DNA screening in normal and low grade abnormal cervical cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2007 Apr;8(2):279-82.
- (60) Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002 Apr 24;287(16):2114-9.
- (61) Davies P, Kornegay J, Iftner T. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001 Oct;15(5):677-700.
- (62) Gravitt PE, Peyton CL, Apple RJ, Wheeler CM. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. *J Clin Microbiol* 1998 Oct;36(10):3020-7.
- (63) Jacobs MV, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ, Walboomers JM. Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol* 1995 Apr;33(4):901-5.
- (64) van den Brule AJ, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJ, Snijders PJ. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. *J Clin Microbiol* 2002 Mar;40(3):779-87.
- (65) Van RM, Kaplan JB, Burk RD. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J Gen Virol* 1992 Oct;73 (Pt 10):2653-60.
- (66) International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. [64]. 1995.
Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (67) Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005 Jul 20;97(14):1072-9.
- (68) van der Marel J, van BR, Alonso I, del PM, van de Sandt M, Lindeman J, et al. Oncogenic human papillomavirus-infected immature metaplastic cells and cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2014 Apr;38(4):470-9.
- (69) van der Marel J, van BR, Quint WG, Berkhof J, del PM, Torne A, et al. The impact of human papillomavirus genotype on colposcopic appearance: a cross-sectional analysis. *BJOG* 2014 Aug;121(9):1117-26.

BIBLIOGRAFÍA

- (70) van der Marel J, Berkhof J, Ordi J, Torne A, del PM, van BR, et al. Attributing Oncogenic Human Papillomavirus Genotypes to High-grade Cervical Neoplasia: Which Type Causes the Lesion? *Am J Surg Pathol* 2015 Apr;39(4):496-504.
 - (71) Monograph on Evaluation of Carcinogenic Risks of Humans Human Papillomaviruses. [64]. 1995. IARC.
- Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (72) Munoz N, Bosch FX, de SS, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, et al. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1992 Nov 11;52(5):743-9.
 - (73) Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998 Dec;153(6):1741-8.
 - (74) Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine* 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F24-F33.
 - (75) de SS, Diaz M, Castellsague X, Clifford G, Bruni L, Munoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007 Jul;7(7):453-9.
 - (76) Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *J Adolesc Health* 2008 Oct;43(4 Suppl):S5-25, S25.
 - (77) Smith JS, Gilbert PA, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of human papillomavirus infection in males: a global review. *J Adolesc Health* 2011 Jun;48(6):540-52.
 - (78) Stanley MA. Immunology of papillomavirus infections. *J Reprod Immunol* 2001;52:45-59.
 - (79) Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, et al. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst* 2008 Apr 2;100(7):513-7.
 - (80) Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, et al. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *J Natl Cancer Inst* 2010 Mar 3;102(5):315-24.
 - (81) von Knebel DM, Vinokurova S. Host factors in HPV - related carcinogenesis cellular mechanisms controlling HPV infections. *Arch Med Res* 2009;435-42.
 - (82) Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, et al. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 Jun 26;109(26):10516-21.
 - (83) Petry KU, Scheffel D, Bode U, Gabrysiak T, Kochel H, Kupsch E, et al. Cellular immunodeficiency enhances the progression of human papillomavirus-associated cervical lesions. *Int J Cancer* 1994 Jun 15;57(6):836-40.
 - (84) Hwang ES, Nottoli T, Dimaio D. The HPV16 E5 protein: expression, detection, and stable complex formation with transmembrane proteins in COS cells. *Virology* 1995 Aug 1;211(1):227-33.
 - (85) Zhang B, Spandau DF, Roman A. E5 protein of human papillomavirus type 16 protects human foreskin keratinocytes from UV B-irradiation-induced apoptosis. *J Virol* 2002 Jan;76(1):220-31.
 - (86) Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 1985 Mar 7;314(6006):111-4.

BIBLIOGRAFÍA

- (87) McDougall JK. immortalization and transformation of human cells by human papillomavirus. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994;186:101-19.
- (88) Munger K, Phelps WC, Bubbs V, Howley PM, Schlegel R. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989 Oct;63(10):4417-21.
- (89) Duensing S, Munger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer* 2004 Mar 20;109(2):157-62.
- (90) Thomas LK, Bermejo JL, Vinokurova S, Jensen K, Bierkens M, Steenbergen R, et al. Chromosomal gains and losses in human papillomavirus-associated neoplasia of the lower genital tract - a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2014 Jan;50(1):85-98.
- (91) Michalas SP. The Pap test: George N. Papanicolaou (1883-1962). A screening test for the prevention of cancer of uterine cervix. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000 Jun;90(2):135-8.
- (92) Scheffner M, Munger K, Byrne JC, Howley PM. The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991 Jul 1;88(13):5523-7.
- (93) Zehbe I, Richard C, DeCarlo CA, Shai A, Lambert PF, Lichtig H, et al. Human papillomavirus 16 E6 variants differ in their dysregulation of human keratinocyte differentiation and apoptosis. *Virology* 2009 Jan 5;383(1):69-77.
- (94) Khleif SN, DeGregori J, Yee CL, Otterson GA, Kaye FJ, Nevins JR, et al. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Apr 30;93(9):4350-4.
- (95) Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U, et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001 Apr 15;92(2):276-84.
- (96) Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Immunohistochemical overexpression of p16 protein associated with intact retinoblastoma protein expression in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Int* 1998 Aug;48(8):580-5.
- (97) Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002 Nov;26(11):1389-99.
- (98) Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993 Nov 5;75(3):495-505.
- (99) Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989 Feb 17;243(4893):934-7.
- (100) Kiyono T, Foster SA, Koop JJ, McDougall JK, Galloway DA, Klingelutz AJ. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 1998 Nov 5;396(6706):84-8.
- (101) Pientong C, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, Kritpetcharat O, Swadpanich U, Pengsa P, et al. Immunocytochemical staining of p16INK4a protein from conventional Pap test and its association with human papillomavirus infection. *Diagn Cytopathol* 2004 Oct;31(4):235-42.
- (102) Chellappan S, Kraus VB, Kroger B, Munger K, Howley PM, Phelps WC, et al. Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992 May 15;89(10):4549-53.
- (103) Zerfass K, Schulze A, Spitkovsky D, Friedman V, Henglein B, Jansen-Durr P. Sequential activation of cyclin E and cyclin A gene expression by human papillomavirus type 16 E7 through sequences necessary for transformation. *J Virol* 1995 Oct;69(10):6389-99.

BIBLIOGRAFÍA

- (104) Funk JO, Waga S, Harry JB, Espling E, Stillman B, Galloway DA. Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes Dev* 1997 Aug 15;11(16):2090-100.
- (105) Jones DL, Alani RM, Munger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein can uncouple cellular differentiation and proliferation in human keratinocytes by abrogating p21Cip1-mediated inhibition of cdk2. *Genes Dev* 1997 Aug 15;11(16):2101-11.
- (106) Zerfass-Thome K, Zwerschke W, Mannhardt B, Tindle R, Botz JW, Jansen-Durr P. Inactivation of the cdk inhibitor p27KIP1 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein. *Oncogene* 1996 Dec 5;13(11):2323-30.
- (107) Band V, Zajchowski D, Kulesa V, Sager R. Human papilloma virus DNAs immortalize normal human mammary epithelial cells and reduce their growth factor requirements. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990 Jan;87(1):463-7.
- (108) Halbert CL, Demers GW, Galloway DA. The E7 gene of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells. *J Virol* 1991 Jan;65(1):473-8.
- (109) Hawley-Nelson P, Vousden KH, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT. HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes. *EMBO J* 1989 Dec 1;8(12):3905-10.
- (110) Reznikoff CA, Belair C, Savelieva E, Zhai Y, Pfeifer K, Yeager T, et al. Long-term genome stability and minimal genotypic and phenotypic alterations in HPV16 E7-, but not E6-, immortalized human uroepithelial cells. *Genes Dev* 1994 Sep 15;8(18):2227-40.
- (111) Da Silva DM, Velders MP, Nieland JD, Schiller JT, Nickoloff BJ, Kast WM. Physical interaction of human papillomavirus virus-like particles with immune cells. *Int Immunol* 2001 May;13(5):633-41.
- (112) Nguyen HH, Broker TR, Chow LT, Alvarez RD, Vu HL, Andrasi J, et al. Immune responses to human papillomavirus in genital tract of women with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2005 Feb;96(2):452-61.
- (113) Zentz C, Wiesner M, Man S, Frankenberger B, Wollenberg B, Hillemanns P, et al. Activated B cells mediate efficient expansion of rare antigen-specific T cells. *Hum Immunol* 2007 Feb;68(2):75-85.
- (114) Magnusson PK, Sparen P, Gyllensten UB. Genetic link to cervical tumours. *Nature* 1999 Jul 1;400(6739):29-30.
- (115) Horn LC, Raptis G, Fischer U. Familial cancer history in patients with carcinoma of the cervix uteri. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002 Feb 10;101(1):54-7.
- (116) Ziegert C, Wentzensen N, Vinokurova S, Kisselov F, Einkenkel J, Hoeckel M, et al. A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques. *Oncogene* 2003 Jun 19;22(25):3977-84.
- (117) Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes* 2010 Feb;40(1):1-13.
- (118) Durst M, Glitz D, Schneider A, zur HH. Human papillomavirus type 16 (HPV 16) gene expression and DNA replication in cervical neoplasia: analysis by in situ hybridization. *Virology* 1992 Jul;189(1):132-40.
- (119) von Knebel DM, Oltersdorf T, Schwarz E, Gissmann L. Correlation of modified human papilloma virus early gene expression with altered growth properties in C4-1 cervical carcinoma cells. *Cancer Res* 1988 Jul 1;48(13):3780-6.
- (120) Wright TC, Jr. HPV DNA testing for cervical cancer screening. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2006 Nov;95 Suppl 1:S239-S246.

BIBLIOGRAFÍA

- (121) Malumbres M, Carnero A. Cell cycle deregulation: a common motif in cancer. *Prog Cell Cycle Res* 2003;5:5-18.
- (122) Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000 Jan 7;100(1):57-70.
- (123) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011 Mar 4;144(5):646-74.
- (124) Malumbres M, Barbacid M. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. *Nat Rev Cancer* 2001 Dec;1(3):222-31.
- (125) Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999 Jun 15;13(12):1501-12.
- (126) Sherr CJ. Cell cycle control and cancer. *Harvey Lect* 2000;96:73-92.
- (127) Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 1989 Nov 3;246(4930):629-34.
- (128) Paulovich AG, Toczyski DP, Hartwell LH. When checkpoints fail. *Cell* 1997 Feb 7;88(3):315-21.
- (129) Sherr CJ. The Pezcoller lecture: cancer cell cycles revisited. *Cancer Res* 2000 Jul 15;60(14):3689-95.
- (130) Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 1995 May 5;81(3):323-30.
- (131) Zhang HS, Gavin M, Dahiya A, Postigo AA, Ma D, Luo RX, et al. Exit from G1 and S phase of the cell cycle is regulated by repressor complexes containing HDAC-Rb-hSWI/SNF and Rb-hSWI/SNF. *Cell* 2000 Mar 31;101(1):79-89.
- (132) Dyson N. The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev* 1998 Aug 1;12(15):2245-62.
- (133) Harbour JW, Dean DC. The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigms. *Genes Dev* 2000 Oct 1;14(19):2393-409.
- (134) Nobori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson DA. Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature* 1994 Apr 21;368(6473):753-6.
- (135) Stone S, Jiang P, Dayananth P, Tavtigian SV, Katcher H, Parry D, et al. Complex structure and regulation of the P16 (MTS1) locus. *Cancer Res* 1995 Jul 15;55(14):2988-94.
- (136) Liggett WH, Jr., Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J Clin Oncol* 1998 Mar;16(3):1197-206.
- (137) Rocco JW, Sidransky D. p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. *Exp Cell Res* 2001 Mar 10;264(1):42-55.
- (138) Gao L, Liu L, van MD, Cairncross G, Forsyth P, Kimmel D, et al. Lack of germ-line mutations of CDK4, p16(INK4A), and p15(INK4B) in families with glioma. *Clin Cancer Res* 1997 Jun;3(6):977-81.
- (139) Hogg D, Brill H, Liu L, Monzon J, Summers A, From L, et al. Role of the cyclin-dependent kinase inhibitor CDKN2A in familial melanoma. *J Cutan Med Surg* 1998 Jan;2(3):172-9.
- (140) Lal G, Liu L, Hogg D, Lassam NJ, Redston MS, Gallinger S. Patients with both pancreatic adenocarcinoma and melanoma may harbor germline CDKN2A mutations. *Genes Chromosomes Cancer* 2000 Apr;27(4):358-61.
- (141) Liu L, Lassam NJ, Slingerland JM, Bailey D, Cole D, Jenkins R, et al. Germline p16INK4A mutation and protein dysfunction in a family with inherited melanoma. *Oncogene* 1995 Jul 20;11(2):405-12.
- (142) Lynch HT, Brand RE, Hogg D, Deters CA, Fusaro RM, Lynch JF, et al. Phenotypic variation in eight extended CDKN2A germline mutation familial atypical multiple mole melanoma-pancreatic

BIBLIOGRAFÍA

- carcinoma-prone families: the familial atypical mole melanoma-pancreatic carcinoma syndrome. *Cancer* 2002 Jan 1;94(1):84-96.
- (143) Monzon J, Liu L, Brill H, Goldstein AM, Tucker MA, From L, et al. CDKN2A mutations in multiple primary melanomas. *N Engl J Med* 1998 Mar 26;338(13):879-87.
 - (144) Sun S, Pollock PM, Liu L, Karimi S, Jothy S, Milner BJ, et al. CDKN2A mutation in a non-FAMMM kindred with cancers at multiple sites results in a functionally abnormal protein. *Int J Cancer* 1997 Nov 14;73(4):531-6.
 - (145) Igaki H, Sasaki H, Kishi T, Sakamoto H, Tachimori Y, Kato H, et al. Highly frequent homozygous deletion of the p16 gene in esophageal cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 1994 Sep 15;203(2):1090-5.
 - (146) Igaki H, Sasaki H, Tachimori Y, Kato H, Watanabe H, Kimura T, et al. Mutation frequency of the p16/CDKN2 gene in primary cancers in the upper digestive tract. *Cancer Res* 1995 Aug 1;55(15):3421-3.
 - (147) Sasaki H, Ishizuka T, Igaki H, Terada M. [Mutation frequency of the p16/CDKN2 gene and amplification of the cyclin E gene in human primary gastric carcinomas]. *Nihon Rinsho* 1996 Apr;54(4):1049-53.
 - (148) Li J, Zhou C, Zhou H, Bao T, Gao T, Jiang X, et al. The association between methylated CDKN2A and cervical carcinogenesis, and its diagnostic value in cervical cancer: a meta-analysis. *Ther Clin Risk Manag* 2016;12:1249-60.
 - (149) Heatley MK. How should we grade CIN? *Histopathology* 2002 Apr;40(4):377-90.
 - (150) Keating JT, Cviko A, Riethdorf S, Riethdorf L, Quade BJ, Sun D, et al. Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2001 Jul;25(7):884-91.
 - (151) Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001 Mar 21;285(11):1500-5.
 - (152) Tam SW, Shay JW, Pagano M. Differential expression and cell cycle regulation of the cyclin-dependent kinase 4 inhibitor p16Ink4. *Cancer Res* 1994 Nov 15;54(22):5816-20.
 - (153) von Knebel DM. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *Eur J Cancer* 2002 Nov;38(17):2229-42.
 - (154) Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavitigian SV, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 1994 Apr 15;264(5157):436-40.
 - (155) Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 1993 Dec 16;366(6456):704-7.
 - (156) Drayton S, Brookes S, Rowe J, Peters G. The significance of p16INK4a in cell defenses against transformation. *Cell Cycle* 2004 May;3(5):611-5.
 - (157) Rayess H, Wang MB, Srivatsan ES. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16. *Int J Cancer* 2012 Apr 15;130(8):1715-25.
 - (158) Sperka T, Wang J, Rudolph KL. DNA damage checkpoints in stem cells, ageing and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012 Sep;13(9):579-90.
 - (159) Campisi J, d'Adda di FF. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007 Sep;8(9):729-40.

BIBLIOGRAFÍA

- (160) Munger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002 Nov;89(2):213-28.
- (161) Belinsky SA, Nikula KJ, Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998 Sep 29;95(20):11891-6.
- (162) Cairns P, Polascik TJ, Eby Y, Tokino K, Califano J, Merlo A, et al. Frequency of homozygous deletion at p16/CDKN2 in primary human tumours. *Nat Genet* 1995 Oct;11(2):210-2.
- (163) Caldas C, Hahn SA, da Costa LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet* 1994 Sep;8(1):27-32.
- (164) Hussussian CJ, Struwing JP, Goldstein AM, Higgins PA, Ally DS, Sheahan MD, et al. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet* 1994 Sep;8(1):15-21.
- (165) Kanuma T, Nishida J, Gima T, Barrett JC, Wake N. Alterations of the p16INK4A gene in human ovarian cancers. *Mol Carcinog* 1997 Mar;18(3):134-41.
- (166) Mori T, Miura K, Aoki T, Nishihira T, Mori S, Nakamura Y. Frequent somatic mutation of the MTS1/CDK4I (multiple tumor suppressor/cyclin-dependent kinase 4 inhibitor) gene in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 1994 Jul 1;54(13):3396-7.
- (167) Walker DG, Duan W, Popovic EA, Kaye AH, Tomlinson FH, Lavin M. Homozygous deletions of the multiple tumor suppressor gene 1 in the progression of human astrocytomas. *Cancer Res* 1995 Jan 1;55(1):20-3.
- (168) Lowe SW, Sherr CJ. Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles. *Curr Opin Genet Dev* 2003 Feb;13(1):77-83.
- (169) von Knebel DM, Reuschenbach M, Schmidt D, Bergeron C. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16(INK4a) to highlight transforming HPV infections. *Expert Rev Proteomics* 2012 Apr;9(2):149-63.
- (170) Tringler B, Gup CJ, Singh M, Groshong S, Shroyer AL, Heinz DE, et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. *Hum Pathol* 2004 Jun;35(6):689-96.
- (171) Li Y, Nichols MA, Shay JW, Xiong Y. Transcriptional repression of the D-type cyclin-dependent kinase inhibitor p16 by the retinoblastoma susceptibility gene product pRb. *Cancer Res* 1994 Dec 1;54(23):6078-82.
- (172) Tsuda H, Hashiguchi Y, Nishimura S, Kawamura N, Inoue T, Yamamoto K. Relationship between HPV typing and abnormality of G1 cell cycle regulators in cervical neoplasm. *Gynecol Oncol* 2003 Dec;91(3):476-85.
- (173) Kim YT, Cho NH, Park SW, Kim JW. Underexpression of cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998 Oct;71(1):38-45.
- (174) Nakashima R, Fujita M, Enomoto T, Haba T, Yoshino K, Wada H, et al. Alteration of p16 and p15 genes in human uterine tumours. *Br J Cancer* 1999 May;80(3-4):458-67.
- (175) Nuovo GJ, Plaia TW, Belinsky SA, Baylin SB, Herman JG. In situ detection of the hypermethylation-induced inactivation of the p16 gene as an early event in oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 Oct 26;96(22):12754-9.
- (176) Tripathi A, Banerjee S, Roy A, Roychowdhury S, Panda CK. Alterations of the P16 gene in uterine cervical carcinoma from Indian patients. *Int J Gynecol Cancer* 2003 Jul;13(4):472-9.

BIBLIOGRAFÍA

- (177) Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16(INK4a) expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003 Jul;16(7):665-73.
- (178) Branca M, Ciotti M, Santini D, Di BL, Giorgi C, Benedetto A, et al. p16(INK4A) expression is related to grade of cin and high-risk human papillomavirus but does not predict virus clearance after conization or disease outcome. *Int J Gynecol Pathol* 2004 Oct;23(4):354-65.
- (179) Focchi GR, Silva ID, Nogueira-de-Souza NC, Dobo C, Oshima CT, Stavale JN. Immunohistochemical expression of p16(INK4A) in normal uterine cervix, nonneoplastic epithelial lesions, and low-grade squamous intraepithelial lesions. *J Low Genit Tract Dis* 2007 Apr;11(2):98-104.
- (180) Keating JT, Ince T, Crum CP. Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2001 Mar;8(2):83-92.
- (181) Kang S, Kim J, Kim HB, Shim JW, Nam E, Kim SH, et al. Methylation of p16INK4a is a non-rare event in cervical intraepithelial neoplasia. *Diagn Mol Pathol* 2006 Jun;15(2):74-82.
- (182) Kalof AN, Cooper K. p16INK4a immunoexpression: surrogate marker of high-risk HPV and high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Adv Anat Pathol* 2006 Jul;13(4):190-4.
- (183) Masumoto N, Fujii T, Ishikawa M, Saito M, Iwata T, Fukuchi T, et al. P16 overexpression and human papillomavirus infection in small cell carcinoma of the uterine cervix. *Hum Pathol* 2003 Aug;34(8):778-83.
- (184) McLaughlin-Drubin ME, Park D, Munger K. Tumor suppressor p16INK4A is necessary for survival of cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 Oct 1;110(40):16175-80.
- (185) Guimaraes MC, Goncalves MA, Soares CP, Bettini JS, Duarte RA, Soares EG. Immunohistochemical expression of p16INK4a and bcl-2 according to HPV type and to the progression of cervical squamous intraepithelial lesions. *J Histochem Cytochem* 2005 Apr;53(4):509-16.
- (186) Nieh S, Chen SF, Chu TY, Lai HC, Lin YS, Fu E, et al. Is p16(INK4A) expression more useful than human papillomavirus test to determine the outcome of atypical squamous cells of undetermined significance-categorized Pap smear? A comparative analysis using abnormal cervical smears with follow-up biopsies. *Gynecol Oncol* 2005 Apr;97(1):35-40.
- (187) von Knebel DM. New molecular tools for efficient screening of cervical cancer. *Dis Markers* 2001;17(3):123-8.
- (188) Torres Gómez FJ, Alameda F, Ordi J, Costa I. Utilidad de la inmunohistoquímica en el diagnóstico histológico y en el manejo de las lesiones del cuello uterino. *Rev Esp Patol* 2012;45(2):86-95.
- (189) Benevolo M, Terrenato I, Mottolise M, Marandino F, Muti P, Carosi M, et al. Comparative evaluation of nm23 and p16 expression as biomarkers of high-risk human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia 2(+) lesions of the uterine cervix. *Histopathology* 2010 Oct;57(4):580-6.
- (190) Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, Brix WK, Nassau SR, Stoler MH. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol* 2010 Aug;34(8):1077-87.
- (191) Guo M, Baruch AC, Silva EG, Jan YJ, Lin E, Sneige N, et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2011 Feb;135(2):212-20.
- (192) Kong CS, Balzer BL, Troxell ML, Patterson BK, Longacre TA. p16INK4A immunohistochemistry is superior to HPV in situ hybridization for the detection of high-risk HPV in atypical squamous metaplasia. *Am J Surg Pathol* 2007 Jan;31(1):33-43.
- (193) Ordi J, Garcia S, del PM, Landolfi S, Alonso I, Quinto L, et al. p16 INK4a immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. *Int J Gynecol Pathol* 2009 Jan;28(1):90-7.

BIBLIOGRAFÍA

- (194) Wang HL, Lu DW. Detection of human papillomavirus DNA and expression of p16, Rb, and p53 proteins in small cell carcinomas of the uterine cervix. *Am J Surg Pathol* 2004 Jul;28(7):901-8.
- (195) Bellina JH, Dunlap WP, Riopelle MA. Reliability of histopathologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *South Med J* 1982 Jan;75(1):6-8.
- (196) Cocker J, Fox H, Langley FA. Consistency in the histological diagnosis of epithelial abnormalities of the cervix uteri. *J Clin Pathol* 1968 Jan;21(1):67-70.
- (197) Creagh T, Bridger JE, Kupek E, Fish DE, Martin-Bates E, Wilkins MJ. Pathologist variation in reporting cervical borderline epithelial abnormalities and cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol* 1995 Jan;48(1):59-60.
- (198) de Vet HC, Knipschild PG, Schouten HJ, Koudstaal J, Kwee WS, Willebrand D, et al. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol* 1990;43(12):1395-8.
- (199) de Vet HC, Knipschild PG, Schouten HJ, Koudstaal J, Kwee WS, Willebrand D, et al. Sources of interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol* 1992 Jul;45(7):785-90.
- (200) Ismail SM, Colclough AB, Dinnen JS, Eakins D, Evans DM, Gradwell E, et al. Reporting cervical intra-epithelial neoplasia (CIN): intra- and interpathologist variation and factors associated with disagreement. *Histopathology* 1990 Apr;16(4):371-6.
- (201) Malpica A, Matisic JP, Niekirk DV, Crum CP, Staerkel GA, Yamal JM, et al. Kappa statistics to measure interrater and intrarater agreement for 1790 cervical biopsy specimens among twelve pathologists: qualitative histopathologic analysis and methodologic issues. *Gynecol Oncol* 2005 Dec;99(3 Suppl 1):S38-S52.
- (202) McCluggage WG, Bharucha H, Caughley LM, Date A, Hamilton PW, Thornton CM, et al. Interobserver variation in the reporting of cervical colposcopic biopsy specimens: comparison of grading systems. *J Clin Pathol* 1996 Oct;49(10):833-5.
- (203) McCluggage WG, Walsh MY, Thornton CM, Hamilton PW, Date A, Caughley LM, et al. Inter- and intra-observer variation in the histopathological reporting of cervical squamous intraepithelial lesions using a modified Bethesda grading system. *Br J Obstet Gynaecol* 1998 Feb;105(2):206-10.
- (204) Ringsted J, Amtrup F, Asklund C, Baunsgaard P, Christensen HE, Hansen L, et al. Reliability of histo-pathological diagnosis of squamous epithelial changes of the uterine cervix. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1978 Jul;86(4):273-8.
- (205) Robertson AJ, Anderson JM, Beck JS, Burnett RA, Howatson SR, Lee FD, et al. Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1989 Mar;42(3):231-8.
- (206) Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, Trunk MJ, Keller T, Ridder R. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2010 Mar;133(3):395-406.
- (207) Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, Rozendaal L, Berkhof J, van KK, et al. p16(INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. *J Clin Pathol* 2010 Nov;63(11):972-7.
- (208) Negri G, Vittadello F, Romano F, Kasal A, Rivasi F, Girlando S, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch* 2004 Dec;445(6):616-20.
- (209) Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis* 2012 Jul;16(3):205-42.

BIBLIOGRAFÍA

- (210) Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2012 Oct;136(10):1266-97.
- (211) Cameron RI, Maxwell P, Jenkins D, McCluggage WG. Immunohistochemical staining with MIB1, bcl2 and p16 assists in the distinction of cervical glandular intraepithelial neoplasia from tubo-endometrial metaplasia, endometriosis and microglandular hyperplasia. *Histopathology* 2002 Oct;41(4):313-21.
- (212) Muserizde NG, Turashvili GA, Burkadze GM. The immunohistochemical characteristics of cervical glandular intraepithelial neoplasias. *Georgian Med News* 2005;127-77.
- (213) McCluggage WG. Immunohistochemistry in the differential diagnosis of female genital tract pathology. *Gynecological Pathology Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone* 2009;667-94.
- (214) Reid R, Lorincz AT. Human papillomavirus tests. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1995 Mar;9(1):65-103.
- (215) Schlecht NF, Platt RW, Negassa A, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, et al. Modeling the time dependence of the association between human papillomavirus infection and cervical cancer precursor lesions. *Am J Epidemiol* 2003 Nov 1;158(9):878-86.
- (216) Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain JM, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *J Low Genit Tract Dis* 2012 Jul;16(3):175-204.
- (217) Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2012 Apr;137(4):516-42.
- (218) Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin* 2012 May;62(3):147-72.
- (219) Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2012 Apr;137(4):516-42.
- (220) Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol* 2013 Apr;121(4):829-46.
- (221) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the Management of Women with Cervical Cytological Abnormalities. *J Low Genit Tract Dis* 2002 Apr;6(2):127-43.
- (222) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002 Apr 24;287(16):2120-9.
- (223) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Low Genit Tract Dis* 2003 Jul;7(3):154-67.
- (224) Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 2003 Jul;189(1):295-304.

BIBLIOGRAFÍA

- (225) Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis* 2007 Oct;11(4):201-22.
- (226) Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007 Oct;197(4):346-55.
- (227) Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S1-S27.
- (228) Torne A, del PM, Cusidó M. Guía de cribado del cáncer de cuello de útero en España, 2014. *Revista Española de Patología* 2015;47:1-43.
- (229) Torrejón Cardoso R, Calero Fernandez MR. 2ª Edición: Proceso Asistencial Integrado Cáncer de Cérvix. Junta de Andalucía. Consejería de Salud.; 2010.
- (230) American Society of Colposcopy and Cervical Parhology. Consensus guidelines. <http://www.asccp.org/consensus.shtml>. 2009.
- (231) Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, et al. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2012 Jul;120(1):166-72.
- (232) Coloma F, Costa S, Sanz I. Control de calidad en colposcopia. XXIII Congreso AECC. 2011.
- (233) Moss EL, Arbyn M, Dollery E, Leeson S, Petry KU, Nieminen P, et al. European Federation of Colposcopy quality standards Delphi consultation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013 Sep;170(1):255-8.
- (234) Moss EL, Redman CW, Arbyn M, Dollery E, Petry KU, Nieminen P, et al. Colposcopy training and assessment across the member countries of the European Federation for Colposcopy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015 May;188:124-8.
- (235) Leeson SC, Alibegashvili T, Arbyn M, Bergeron C, Carriero C, Mergui JL, et al. The future role for colposcopy in Europe. *J Low Genit Tract Dis* 2014 Jan;18(1):70-8.
- (236) Marcadores precoces de la integración del genoma viral del Virus del Papiloma Humano: Utilidad de la detección del mRNA HPV E6/E7 en el Cribado del Cáncer de Cérvix y en el manejo de las Lesiones Preinvasoras. 2015.
- (237) Coutlee F, Gravitt P, Kornegay J, Hankins C, Richardson H, Lapointe N, et al. Use of PGMY primers in L1 consensus PCR improves detection of human papillomavirus DNA in genital samples. *J Clin Microbiol* 2002 Mar;40(3):902-7.
- (238) de Roda Husman AM, Walboomers JM, van den Brule AJ, Meijer CJ, Snijders PJ. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol* 1995 Apr;76 (Pt 4):1057-62.
- (239) McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008 May;9(5):425-34.
- (240) Prendiville W, Cullimore J, Norman S. Large loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Obstet Gynaecol* 1989 Sep;96(9):1054-60.
- (241) Torné A. Colposcopia digital en las lesiones premalignas de cuello uterino. Morfometría y análisis de imagen. Tesis doctoral. Barcelona: Universitat de Barcelona. 2000.

BIBLIOGRAFÍA

- (242) Sagasta A, Castillo P, Saco A, Torne A, Esteve R, Marimon L, et al. p16 staining has limited value in predicting the outcome of histological low-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Mod Pathol* 2016 Jan;29(1):51-9.
- (243) Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG, et al. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003 Jan 1;95(1):46-52.
- (244) Castle PE, Gravitt PE, Wentzensen N, Schiffman M. A descriptive analysis of prevalent vs incident cervical intraepithelial neoplasia grade 3 following minor cytologic abnormalities. *Am J Clin Pathol* 2012 Aug;138(2):241-6.
- (245) Genoves J, Alameda F, Mancebo G, Sole JM, Bellosillo B, Lloveras B, et al. Human papillomavirus detection and p16INK4a expression in cervical lesions: a comparative study. *Hum Pathol* 2014 Apr;45(4):826-33.
- (246) Dalla PP, Giorgi RP, Collina G, Buccoliero AM, Ghiringhello B, Gilioli E, et al. The reproducibility of CIN diagnoses among different pathologists: data from histology reviews from a multicenter randomized study. *Am J Clin Pathol* 2009 Jul;132(1):125-32.
- (247) Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2009 May;35(3):210-20.
- (248) Pacchiarotti A, Ferrari F, Bellardini P, Chini F, Collina G, Dalla PP, et al. Prognostic value of p16-INK4A protein in women with negative or CIN1 histology result: a follow-up study. *Int J Cancer* 2014 Feb 15;134(4):897-904.
- (249) Jin SL, Zhang ZS, Yang YH. [The expression of p16 and Rb protein in the tissue of cervical squamous carcinoma]. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2000 Aug 28;25(4):393-6.
- (250) Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006 May;110(5):525-41.
- (251) Wang JL, Zheng BY, Li XD, Angstrom T, Lindstrom MS, Wallin KL. Predictive significance of the alterations of p16INK4A, p14ARF, p53, and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2004 Apr 1;10(7):2407-14.
- (252) Wang SS, Trunk M, Schiffman M, Herrero R, Sherman ME, Burk RD, et al. Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004 Aug;13(8):1355-60.
- (253) Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, Del MA, Sani C, De ML, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4A results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2013 Feb;14(2):168-76.
- (254) Benevolo M, Mottolise M, Marandino F, Vocaturo G, Sindico R, Piperno G, et al. Immunohistochemical expression of p16(INK4a) is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol* 2006 Mar;19(3):384-91.
- (255) Murphy N, Ring M, Killalea AG, Uhlmann V, O'Donovan M, Mulcahy F, et al. p16INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. *J Clin Pathol* 2003 Jan;56(1):56-63.
- (256) Andersson S, Wangsa D, Flores-Staino C, Safari H, Mints M, Hjerpe A, et al. Expression of p16(INK4a) in relation to histopathology and viral load of 'high-risk' HPV types in cervical neoplastic lesions. *Eur J Cancer* 2006 Nov;42(16):2815-20.
- (257) Kalof AN, Evans MF, Simmons-Arnold L, Beatty BG, Cooper K. p16INK4A immunoexpression and HPV in situ hybridization signal patterns: potential markers of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2005 May;29(5):674-9.

BIBLIOGRAFÍA

- (258) Liao GD, Sellors JW, Sun HK, Zhang X, Bao YP, Jeronimo J, et al. p16INK4A immunohistochemical staining and predictive value for progression of cervical intraepithelial neoplasia grade 1: a prospective study in China. *Int J Cancer* 2014 Apr 1;134(7):1715-24.
- (259) Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. Five-year risk of CIN 3+ to guide the management of women aged 21 to 24 years. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S64-S68.
- (260) Moore G, Fetterman B, Cox JT, Poitras N, Lorey T, Kinney W, et al. Lessons from practice: risk of CIN 3 or cancer associated with an LSIL or HPV-positive ASC-US screening result in women aged 21 to 24. *J Low Genit Tract Dis* 2010 Apr;14(2):97-102.
- (261) Carozzi F, Confortini M, Dalla PP, Del MA, Gillio-Tos A, De ML, et al. Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2008 Oct;9(10):937-45.
- (262) Wentzensen N, Bergeron C, Cas F, Eschenbach D, Vinokurova S, von Knebel DM. Evaluation of a nuclear score for p16INK4a-stained cervical squamous cells in liquid-based cytology samples. *Cancer* 2005 Dec 25;105(6):461-7.
- (263) Castle PE, Rodriguez AC, Burk RD, Herrero R, Hildesheim A, Solomon D, et al. Neither one-time negative screening tests nor negative colposcopy provides absolute reassurance against cervical cancer. *Int J Cancer* 2009 Oct 1;125(7):1649-56.
- (264) Massad LS, Jeronimo J, Katki HA, Schiffman M. The accuracy of colposcopic grading for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Low Genit Tract Dis* 2009 Jul;13(3):137-44.
- (265) Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998 Apr;91(4):626-31.
- (266) Pretorius RG, Belinson JL, Burchette RJ, Hu S, Zhang X, Qiao YL. Regardless of skill, performing more biopsies increases the sensitivity of colposcopy. *J Low Genit Tract Dis* 2011 Jul;15(3):180-8.
- (267) Razmpoosh M, Sansregret A, Oligny LL, Patey N, Dormoy-Raclet V, Ducruet T, et al. Assessment of correlation between p16INK4a staining, specific subtype of human papillomavirus, and progression of LSIL/CIN1 lesions: first comparative study. *Am J Clin Pathol* 2014 Jul;142(1):104-10.
- (268) Hammes LS, Naud P, Passos EP, Matos J, Brouwers K, Rivoire W, et al. Value of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy (IFCPC) Terminology in predicting cervical disease. *J Low Genit Tract Dis* 2007 Jul;11(3):158-65.
- (269) Puig Tintoré LM, Torné A, Ordi J, Galcerán J, Ferré J. Colposcopia digital en la neoplasia cervical intraepitelial. *Correlación histológica y utilidad clínica. Prog Obstet Ginecol* 2001;44:490-6.
- (270) Bekkers RL, van de Nieuwenhof HP, Neesham DE, Hendriks JH, Tan J, Quinn MA. Does experience in colposcopy improve identification of high grade abnormalities? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008 Nov;141(1):75-8.
- (271) Schiffman M, Solomon D. Findings to date from the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS). *Arch Pathol Lab Med* 2003 Aug;127(8):946-9.
- (272) Zuchna C, Hager M, Tringler B, Georgouloupoulos A, Ciresa-Koenig A, Volgger B, et al. Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen. *Am J Obstet Gynecol* 2010 Oct;203(4):321-6.
- (273) Underwood M, Arbyn M, Parry-Smith W, De Bellis-Ayres S, Todd R, Redman CW, et al. Accuracy of colposcopy-directed punch biopsies: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 2012 Oct;119(11):1293-301.
- (274) Gage JC, Hanson VW, Abbey K, Dippery S, Gardner S, Kubota J, et al. Number of cervical biopsies and sensitivity of colposcopy. *Obstet Gynecol* 2006 Aug;108(2):264-72.

BIBLIOGRAFÍA

- (275) Puig Tintoré LM. Prevención del cáncer cervical: Vacunación y colposcopia. Curso de formación continuada en prevención del cáncer cervical, vacunación y colposcopia. Madrid: Edimsa. 2011 p. 31-78.
- (276) van der Marel J, van BR, Rodriguez A, Quint WG, van de Sandt MM, Berkhof J, et al. The increased detection of cervical intraepithelial neoplasia when using a second biopsy at colposcopy. *Gynecol Oncol* 2014 Nov;135(2):201-7.
- (277) Massad LS, Collins YC. Strength of correlations between colposcopic impression and biopsy histology. *Gynecol Oncol* 2003 Jun;89(3):424-8.
- (278) Burger MP, Hollema H. The reliability of the histologic diagnosis in colposcopically directed biopsies. A plea for LETZ. *Int J Gynecol Cancer* 1993 Nov;3(6):385-90.
- (279) Denny LA, Soeters R, Dehaeck K, Bloch B. Does colposcopically directed punch biopsy reduce the incidence of negative LLETZ? *Br J Obstet Gynaecol* 1995 Jul;102(7):545-8.
- (280) Howe DT, Vincenti AC. Is large loop excision of the transformation zone (LLETZ) more accurate than colposcopically directed punch biopsy in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia? *Br J Obstet Gynaecol* 1991 Jun;98(6):588-91.
- (281) Massad LS, Halperin CJ, Bitterman P. Correlation between colposcopically directed biopsy and cervical loop excision. *Gynecol Oncol* 1996 Mar;60(3):400-3.
- (282) de SS, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010 Nov;11(11):1048-56.
- (283) Wentzensen N, Walker J, Schiffman M, Yang HP, Zuna RE, Dunn ST, et al. Heterogeneity of high-grade cervical intraepithelial neoplasia related to HPV16: implications for natural history and management. *Int J Cancer* 2013 Jan 1;132(1):148-54.
- (284) Pretorius RG, Zhang WH, Belinson JL, Huang MN, Wu LY, Zhang X, et al. Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. *Am J Obstet Gynecol* 2004 Aug;191(2):430-4.
- (285) Youkeles L, Forsythe AB, Stern E. Evaluation of Papanicolaou smear and effect of sample biopsy in follow-up of cervical dysplasia. *Cancer Res* 1976 Jun;36(6):2080-4.
- (286) Anschau F, Schmitt VM, Lambert AP, Goncalves MA, Machado DC. Transition of cervical carcinoma in situ to invasive cancer: role of p16 INK4a expression in progression and in recurrence. *Exp Mol Pathol* 2009 Feb;86(1):46-50.
- (287) Ozaki S, Zen Y, Inoue M. Biomarker expression in cervical intraepithelial neoplasia: potential progression predictive factors for low-grade lesions. *Hum Pathol* 2011 Jul;42(7):1007-12.
- (288) Srinivasan M, Sedmak D, Jewell S. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. *Am J Pathol* 2002 Dec;161(6):1961-71.
- (289) van Doorn LJ, Quint W, Kleter B, Molijn A, Colau B, Martin MT, et al. Genotyping of human papillomavirus in liquid cytology cervical specimens by the PGMV line blot assay and the SPF(10) line probe assay. *J Clin Microbiol* 2002 Mar;40(3):979-83.
- (290) Gravitt PE, van Doorn LJ, Quint W, Schiffman M, Hildesheim A, Glass AG, et al. Human papillomavirus (HPV) genotyping using paired exfoliated cervicovaginal cells and paraffin-embedded tissues to highlight difficulties in attributing HPV types to specific lesions. *J Clin Microbiol* 2007 Oct;45(10):3245-50.
- (291) Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996 Jul;23(4):333-41.

BIBLIOGRAFÍA

- (292) Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, Seagar AL, Arends MJ, Moore C, et al. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol* 2004 Jan;57(1):68-72.
- (293) Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ, Risse EK, van Diest PJ, Bleker OP, et al. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. *Int J Cancer* 1993 Apr 1;53(6):919-23.
- (294) Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000 Mar 15;92(6):464-74.
- (295) Kleter B, van Doorn LJ, Schrauwen L, Molijn A, Sasrowijoto S, ter SJ, et al. Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 1999 Aug;37(8):2508-17.
- (296) Klug SJ, Molijn A, Schopp B, Holz B, Iftner A, Quint W, et al. Comparison of the performance of different HPV genotyping methods for detecting genital HPV types. *J Med Virol* 2008 Jul;80(7):1264-74.
- (297) Wentzensen N, Schiffman M, Dunn T, Zuna RE, Gold MA, Allen RA, et al. Multiple human papillomavirus genotype infections in cervical cancer progression in the study to understand cervical cancer early endpoints and determinants. *Int J Cancer* 2009 Nov 1;125(9):2151-8.
- (298) Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3-78-S3/89.
- (299) Ordi J, Alonso I, Torne A, Esteve R, Sierra E, Campo E, et al. Human papillomavirus load in Hybrid Capture II assay: does increasing the cutoff improve the test? *Gynecol Oncol* 2005 Nov;99(2):313-9.
- (300) Schiffman M, Khan MJ, Solomon D, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, et al. A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening and triage tests. *J Natl Cancer Inst* 2005 Jan 19;97(2):147-50.
- (301) Hiramata T, Miller CW, Wilczynski SP, Koeffler HP. p16 (CDKN2/cyclin-dependent kinase-4 inhibitor/multiple tumor suppressor-1) gene is not altered in uterine cervical carcinomas or cell lines. *Mod Pathol* 1996 Jan;9(1):26-31.
- (302) Kelley MJ, Otterson GA, Kaye FJ, Popescu NC, Johnson BE, Dipaolo JA. CDKN2 in HPV-positive and HPV-negative cervical-carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1995 Oct 9;63(2):226-30.
- (303) Kim JW, Namkoong SE, Ryu SW, Kim HS, Shin JW, Lee JM, et al. Absence of p15INK4B and p16INK4A gene alterations in primary cervical carcinoma tissues and cell lines with human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol* 1998 Jul;70(1):75-9.
- (304) Ordi J, Alonso I, Torne A, Esteve R, Sierra E, Campo E, et al. Human papillomavirus load in Hybrid Capture II assay: does increasing the cutoff improve the test? *Gynecol Oncol* 2005 Nov;99(2):313-9.
- (305) Guo M, Hu L, Baliga M, He Z, Hughson MD. The predictive value of p16(INK4a) and hybrid capture 2 human papillomavirus testing for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2004 Dec;122(6):894-901.
- (306) Hu L, Guo M, He Z, Thornton J, McDaniel LS, Hughson MD. Human papillomavirus genotyping and p16INK4a expression in cervical intraepithelial neoplasia of adolescents. *Mod Pathol* 2005 Feb;18(2):267-73.
- (307) Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study (ALTS) Group. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:397-402.

BIBLIOGRAFÍA

- (308) Jeronimo J, Massad LS, Schiffman M. Visual appearance of the uterine cervix: correlation with human papillomavirus detection and type. *Am J Obstet Gynecol* 2007 Jul;197(1):47-8.
- (309) Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006 Jan;208(2):152-64.
- (310) Guimera N, Lloveras B, Lindeman J, Alemany L, van de Sandt M, Alejo M, et al. The occasional role of low-risk human papillomaviruses 6, 11, 42, 44, and 70 in anogenital carcinoma defined by laser capture microdissection/PCR methodology: results from a global study. *Am J Surg Pathol* 2013 Sep;37(9):1299-310.
- (311) Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. Five-year risks of CIN 2+ and CIN 3+ among women with HPV-positive and HPV-negative LSIL Pap results. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S43-S49.
- (312) Burger MP, Hollema H, Pieters WJ, Schroder FP, Quint WG. Epidemiological evidence of cervical intraepithelial neoplasia without the presence of human papillomavirus. *Br J Cancer* 1996 Mar;73(6):831-6.
- (313) Katki HA, Gage JC, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, et al. Follow-up testing after colposcopy: five-year risk of CIN 2+ after a colposcopic diagnosis of CIN 1 or less. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S69-S77.
- (314) Benevolo M, Terrenato I, Mottolese M, Marandino F, Carosi M, Rollo F, et al. Diagnostic and prognostic validity of the human papillomavirus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples of HC2-positive patients. *Cancer Causes Control* 2011 Jun;22(6):869-75.
- (315) Moore G, Fetterman B, Cox JT, Poitras N, Lorey T, Kinney W, et al. Lessons from practice: risk of CIN 3 or cancer associated with an LSIL or HPV-positive ASC-US screening result in women aged 21 to 24. *J Low Genit Tract Dis* 2010 Apr;14(2):97-102.
- (316) Altman DG. *Practical statistics for medical research*. Londres: Chapman and Hall 1991.
- (317) Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics*. 7 th ed Boston: Books/Cole 2011.
- (318) Mills AM, Paquette C, Castle PE, Stoler MH. Risk stratification by p16 immunostaining of CIN1 biopsies: a retrospective study of patients from the quadrivalent HPV vaccine trials. *Am J Surg Pathol* 2015 May;39(5):611-7.
- (319) Walker P. The English National Health Service Cervical Screening Programme - approach to new technologies and quality assurance. *J Low Genit Tract Dis* 2005;9:118-23.
- (320) Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition--summary document. *Ann Oncol* 2010 Mar;21(3):448-58.
- (321) Azara CZ, Manrique EJ, Alves de Souza NL, Rodrigues AR, Tavares SB, Amaral RG. External quality control of cervical cytopathology: interlaboratory variability. *Acta Cytol* 2013;57(6):585-90.
- (322) Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Dalla PP, Naldoni C, et al. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ* 2007 Jul 7;335(7609):28.
- (323) Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A, et al. A systematic review of the role of human papillomavirus testing within a cervical screening programme. *Health Technol Assess* 1999;3(14):i-196.
- (324) Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A, et al. A systematic review of the role of human papilloma virus (HPV) testing within a cervical screening programme: summary and conclusions. *Br J Cancer* 2000 Sep;83(5):561-5.

BIBLIOGRAFÍA

- (325) Wright TC, Jr., Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004 Feb;103(2):304-9.
- (326) Ronco G, van BM, Becker N, Chil A, Fender M, Giubilato P, et al. Process performance of cervical screening programmes in Europe. *Eur J Cancer* 2009 Oct;45(15):2659-70.
- (327) Redman CWE. Minimum Standards for Colposcopy Training. Reunion de la European Federation for Colposcopy en Rodas. European Federation for Colposcopy 2011 Available from: URL: <http://www.e-f-c.org/pages/education/minimum-standards-for-colposcopy-training.php>
- (328) Cortés J. Acreditación en Colposcopia. *Boletín AEPCC* 2006;(19):9-10.
- (329) Walker P, Dexeus S, De PG, Barrasso R, Campion M, Girardi F, et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2003 Jan;101(1):175-7.

Use the "Insert Citation" button to add citations to this document.

Use the "Insert Citation" button to add citations to this document.